Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Direktor: Professor Dr.med. Georg Henneberg

Experimente über die orale Infektion von Meerschweinchen mit Poliomyelitisviren

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Kraft
aus Bad Wildungen

1966

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Direktor: Professor Dr.med. Georg Henneberg

Experimente über die orale Infektion von Meerschweinchen mit Poliomyelitisviren

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Kraft
aus Bad Wildungen

Dekan: Prof.Dr.med. Wilhelm Maßhoff

Referent: Prof.Dr.med. Georg Henneberg

Korreferent: Prof.Dr.med. Bernhard Schmidt

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 25.August 1966

Meinen Eltern

EXPERIMENTE ÜBER DIE ORALE INFEKTION VON MEERSCHWEINCHEN MIT POLIOMYELITISVIREN

I. Die Wirkung der Galle auf die Resorption

II. Die Wirkung der Galle auf Viren

Eigene Experimente

A) Untersuchungen über den Einfluß von Gallepräparaten auf Influenza- und Poliomyelitisviren

1. Influenzaviren

2. Polioviren

B) Untersuchungen über die Verfütterung von Poliomyelitisviren an Meerschweinchen unter Verwendung resorptionsfördernder Substanzen

a) Material und Methoden

b) Versuchsergebnisse

III. Besprechung der Versuchsergebnisse

Zusammenfassung

Schrifttum

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546527_0043

E i n l e i t u n g

Während der ersten oralen Massenimpfung gegen Poliomyelitis mit Cox-Impfstoff im Mai 1960 in Berlin West sollten in zwei Fällen, wie im Robert Koch-Institut bekannt wurde, Meerschweinchen in der Umgebung von geimpften Kindern krank geworden sein.

Obwohl zunächst kein Zusammenhang zwischen der "Schluckimpfung" und der Erkrankung von Tieren innerhalb der geimpften Wohnungsgemeinschaften gesehen wurde, wurde ein Meerschweinchen, das dem Robert Koch-Institut gebracht worden war, untersucht.

Dieses Tier war sehr schwach, hatte schleimig-eitrigen Ausfluß aus beiden Augen, und die "Lähmung" der linken Hinterextremität war ein Schonen und Schleifenlassen. Die Sektion ergab: Magen und Darm stark gebläht und auffallend leer, Blinddarm stark gebläht und haemorrhagisch. Die Untersuchung des Darmschleimes ergab Colibakterien und Enterokokken.

Aus dem haemorrhagischen Blinddarminhalt wurde überraschend Poliovirus Typ III angezüchtet.

Da Fehlermöglichkeiten ausgeschlossen werden konnten, mußte die Infektion des Meerschweinchens mit Poliomyelitisviren als eine Tatsache angesehen werden.

In bisher unveröffentlichten Untersuchungen aus dem Poliomyelitislaboratorium des Robert Koch-Institutes (Leiter: Frau Dr. L. Grützner) wurde die orale und auch die Kontaktinfektion von Meerschweinchen mit verschiedenen "Impfstämmen" versucht:

Es wurden zwei Meerschweinchen mit je 2 ml Cox-Impfstoff (trivalent) gefüttert. Zu diesen beiden Meerschweinchen (M_1 und M_2) wurden am nächsten Tag für 24 Stunden Meerschweinchen M_3 und M_4 in das enge Glas zugesetzt und dann durch Meerschweinchen M_5 und M_6 ersetzt, die auch für 24

Stunden im engsten Kontakt mit M_1 und M_2 blieben. Bei M_1 und M_2 sind aus dem Kot (aus dem Rectum entnommen) Polioviren aller 3 Typen über mehrere Tage nachgewiesen worden. Ebenso gelang der Nachweis von Poliovirus Typ I, II, III bei M_3 und M_4. Bei M_5 und M_6 gelang der Nachweis von Polioviren Typ I und III nur bei Abnahme 48 Stunden nach dem Kontakt mit M_1 und M_2. Das Blut der Meerschweinchen wurde im Neutralisationstest untersucht; dabei fand sich gegen die Poliovirustypen I und III ein geringer Titeranstieg.

Die Versuche wurden vier Monate später wiederholt; die Virusmenge in der Cox-Vaccine war um zwei Zehnerpotenzen gefallen. Alle sechs Meerschweinchen blieben kulturell und serologisch negativ.

Der dritte Versuch wurde angesetzt mit dem attenuierten Sabin-Virus Typ I LSc(a), Titer $1o^{-6}$/ml bezw. $1o^{-5}$/ml bezw. $1o^{-4}$/ml. Nur eins von sechs Tieren war nach 48 Stunden mit Poliovirus Typ I im Kot positiv.

Mit einem trivalenten Cox-Impfstoff, der im Laboratorium mit dem Titer $1o^{-6}$/ml je Typ zusammengesetzt wurde, sind sechs Meerschweinchen infiziert worden. Nur bei einem Tier wurde Poliovirus Typ I 24 Stunden nach der Infektion aus den Faeces isoliert.

Eine Verfütterung von Lederle I Antigen mit dem Titer $1o^{-6}$/ml an Meerschweinchen blieb serologisch und im Analabstrich stets negativ.

Bei dem letzten Versuch dieser Serie, die im Laboratorium von Frau Dr. Grützner durchgeführt wurde, bekamen sechs Meerschweinchen ein Gallepräparat vorgefüttert und dann wiederum Poliovirus Lederle Typ I, Titer $1o^{-6}$/ml oral verimpft. Bei fünf Tieren konnte in den ersten Tagen nach der Impfung im Analabstrich Poliovirus nachgewiesen und als Typ I identifiziert werden. Drei Tiere starben nach ungefähr einer Woche. Bei dem im Analabstrich negativen Tier ließ sich, wie auch bei einigen der positiven, drei Wochen nach der Impfung ein geringer Anstieg der neutralisierenden Antikörper gegen-

über Typ I nachweisen.

Eine Gesetzmäßigkeit über das Angehen einer Polioinfektion bei Meerschweinchen ließ sich also aus den geschilderten Versuchsergebnissen nicht ableiten. Doch verdient die Tatsache, daß unter bestimmten Voraussetzungen Meerschweinchen mit Poliomyelitisvirus - sogar oral - infiziert werden können, starke Beachtung.

Abschließend kann angenommen werden, daß das oben genannte Meerschweinchen, mag es vorher krank gewesen sein und deshalb nichts gefressen haben, von dem oral geimpften Kind infiziert wurde, die Poliomyelitisviren fanden in dem Tier, möglicherweise bevorzugt im Blinddarm, eine Gelegenheit zur Ansiedlung.

In der Literatur sind positive Erfolge solcher Bemühungen um die Infektion so selten verzeichnet, daß von der überwiegenden Mehrheit der Autoren das Meerschweinchen zu den primär für Polio unempfänglichen Tieren gerechnet wird.

LANDSTEINER und POPPER (52), denen als ersten 1909 die Übertragung der menschlichen Poliomyelitis auf Affen gelang, versuchten mit derselben Virussuspension auch Meerschweinchen und Mäuse zu infizieren, hatten jedoch damit keinen Erfolg.

KRAUSE und MEINICKE (50) waren ebenfalls nicht erfolgreich in der Infektion von Mäusen, Meerschweinchen, Tauben oder Geflügel, wie auch RÖMER (33) die Übertragung der Kinderlähmung auf Mäuse und Meerschweinchen mißlang.

FLEXNER und LEWIS (23) schrieben 1910, daß "viele Meerschweinchen, ein Lamm, zwei Kälber, drei Gänse, drei Schafe, sechs Ratten, sechs Mäuse, sechs Hunde und vier Katzen aktives Virus in ihre Gehirne eingeführt bekamen, ohne einen wahrnehmbaren Effekt zu zeitigen". Auch MATHERS (33) war nicht in der Lage, Meerschweinchen zu infizieren.

In einer sorgfältig durchgeführten Untersuchungsreihe mit intracerebraler Impfung von Meerschweinchen und Ratten bewirkte STIMSON (33) regelmäßig den Tod der Tiere, aber histologische Untersuchungen des Zentralnervensystems ließen keine für Poliomyelitis charakteristischen Veränderungen erkennen.

Im Gegensatz zu den oben angeführten Beobachtungen stehen die Ergebnisse von Meerschweinchenversuchen, die von NEUSTAEDTER und von PICARD unabhängig voneinander durchgeführt wurden.

NEUSTAEDTER (58) bemerkte bei zwei Meerschweinchen, die in einem Käfig neben einem polioinfizierten Affen lebten, schlaffe Lähmungen. Rückenmark und Nasenschleim des einen Tieres wurden an zwei weitere Meerschweinchen verimpft, und die Tiere kamen unter Krampfanfällen zu Tode. Ein mit filtrierten, von Affen gewonnenen Polioviren getränkter intranasaler Tampon führte bei einem Meerschweinchen nach zwei Tagen zu schlaffen Lähmungen. Die histologische Untersuchung dieses Tieres ergab im Zentralnervensystem typische poliomyelitische Veränderungen mit perivasculären Infiltrationen und Neuronophagie.

PICARD (60) berichtet über eine ähnliche spontane Übertragung von Poliomyelitis auf drei Meerschweinchen, die in engem Kontakt mit infizierten Affen gehalten wurden. CREUTZFELD untersuchte das Rückenmark dieser Tiere und fand auch hier das der menschlichen Poliomyelitis entsprechende Bild.(33).

HARMON (33) dagegen konnte bei einer späteren Nachprüfung dieser Mitteilungen weder bei Meerschweinchen noch bei anderen Tieren durch Verimpfung massiver Dosen von affenpathogenem Poliovirus ein Krankheitsbild erzeugen, das der Poliomyelitis entsprach oder auch nur ähnlich war.

Einen interessanten Aspekt in Hinsicht auf die Empfänglichkeit von Meerschweinchen lieferte in neuerer Zeit die Arbeit

von GARD et al. (29); die Autoren benutzten Meerschweinchen zur Testung der immunogenen Kraft von Poliovirussuspensionen, indem das Meerschweinchen auf die Inoculation (nicht Fütterung) von lebendem oder mit Formol inaktiviertem Virus mit der Bildung neutralisierender Antikörper antwortet. Dabei scheint die Stärke der Antikörperproduktion unabhängig davon zu sein, ob das Virus aktiv ist oder nicht, sondern nur von der Menge des zugeführten Antigens abzuhängen. Das wird als Beweis dafür gewertet, daß sich das Poliovirus nicht im Meerschweinchenkörper vermehren kann.

Die Untersuchungen von GRÜTZNER haben gezeigt, daß eine Infektion von Meerschweinchen grundsätzlich möglich ist - auch per os. Nur kennen wir die Bedingungen noch nicht, die für das Angehen einer Infektion erfüllt sein müssen. Sind es viruseigene oder äußere Faktoren, die von wesentlichem Einfluß hierauf sind? Erstere bestimmt nicht allein! Die unterschiedlichen Ergebnisse mit ein und derselben Viruscharge beweisen die Bedeutung äußerer Faktoren. Darüber sollten Experimente vor allem nach Vorbehandlung mit fördernden Substanzen durchgeführt werden.

I. Die Wirkung der Galle auf die Resorption

Normalerweise besteht die Darmflora des Meerschweinchens fast ausschließlich aus grampositiven Kokken. Coli-Bakterien finden sich entweder gar nicht oder nur ganz vereinzelt - im Gegensatz zu dem gewohnten Bild bei anderen Säugetieren.

Nach FISCHER (22) weisen Meerschweinchen aber bei schweren Krankheitszuständen der allerverschiedensten Ursachen eine reichliche Besiedlung des Darmtraktes mit Coli-Bakterien auf. Bei dem aus der Umgebung von mit Cox-Impfstoff immunisierten Kindern stammenden Meerschweinchen fand sich im haemorrhagischen Darminhalt Bacterium coli in größerer Menge.

Es stellte sich nun die Frage, ob diese Darmerkrankung - welcher Ursache sie auch gewesen sein möge - vielleicht das Angehen der Poliomyelitisinfektion überhaupt erst ermöglicht habe, indem das scheinbar sonst nicht meerschweinchenpathogene Poliomyelitisvirus die Epithelschranke des Darmes in einer solchen Quantität durchbrechen konnte. Wenn Antikörper gefunden werden, muß aber das RES mit dem Virus in Kontakt gekommen sein.

Gibt es nun experimentell eine Möglichkeit, die Durchlässigkeit der Darmschleimhaut zu steigern?

1919 bereits bemerkte BESREDKA (17), daß es nach vorheriger oraler Gabe von Ochsengalle gelang, Kaninchen für lebende Paratyphuskulturen empfänglicher zu machen. Er behauptete, daß die Galle eine Desquamation der Mucosa bewirke und somit die Absorption der Bakterien erleichtere.

DIETRICH (16) konnte 1922 zeigen, daß erhebliche Mengen von Tetanustoxin von dem mit Galle vorbehandelten Darm resorbiert werden und so den Tod der Versuchstiere zur Folge

haben, während sich eine Giftresorption vom normalen Darm nicht nachweisen ließ; der Autor folgert: "Die Galle fördert also die Resorption großer Moleküle".

In seinen "Beiträgen zur Aetiologie der anaphylaktischen Erkrankungen" schreibt HAJOS (31), daß eine experimentelle Fütterungsanaphylaxie nur dann regelmäßig gelingt, wenn eine abnorme Durchlässigkeit der Magendarmschleimhaut vorhanden ist. Solche Veränderungen können durch Alkohol, Röntgenbestrahlung und Galle hervorgerufen werden, und tatsächlich konnten durch diese Mittel die Vorbedingungen zur enteralen Sensibilisierung geschaffen werden.

COMBIESCO und CALALB (13) benutzten die Galle zur Sensibilisierung von Kaninchen bei der oralen Immunisierung gegen Staphylokokken, wobei die Tiere genauso wirksam geschützt werden wie durch kutane, intrakutane und subkutane Impfung.

Mit vorangehender Gallefütterung erreichte BESREDKA (8) beim Kaninchen durch orale Gaben von abgetöteten Typhuskeimen eine belastbare Immunität, die ohne Gallevorbereitung nicht zu erzielen war.

STRONG und HICKS (75) fütterten Mäuse nach Gabe von Galle mit inaktiviertem Bacterium typhimurium, wonach die Tiere eine Infektion mit einer 100-fachen tödlichen Dosis überstanden, während ebenfalls mit inaktivierten Bakterien behandelte Tiere, die vorher jedoch keine Galle bekommen hatten, schon einer einfachen Dosis erlagen.

Die Einnahme von Galle scheint eine Änderung der intestinalen Auskleidung zu bewirken - und zwar augenblicklich (3) -, die die Penetration von Substanzen ermöglicht, die sonst gar nicht oder nur in irrelevanter Menge die Epithelbarriere durchbrechen können.

Wie sehen die morphologischen Veränderungen aus, welche die Galle an der Darmschleimhaut bewirkt?

Nach einwöchiger Gabe von täglich 5 ml einfacher Ochsengalle zeigte der Dünndarm von Kaninchen folgendes histologische Bild (3): Vakuolisierung und hyalintropfige Entmischung des Cytoplasmas am apicalen Pol der Epithelzellen mit Verlust des Bürstenbesatzes. Mitunter springen die geschwollenen Zellen in das Darmlumen vor. Diese Erscheinungen finden sich vornehmlich an den Zottenspitzen. Die Tunica propria mucosae und die Submucosa sind stark mit Lymphozyten und Plasmazellen durchsetzt.

Auch längere Unterernährung wirkt in ähnlicher Weise sensibilisierend auf Versuchstiere wie Fütterung von Galle (71). Der Kaninchendarm bietet nach 70 Stunden Nahrungskarenz folgendes Aussehen: Besonders im Duodenum und in dem nachfolgenden Jejunalteil fehlt der Schleim, und das Epithel ist (mit Fluorescin sichtbar gemacht) weitgehend desquamiert. Daneben bestehen sanguinolente Suffusionen. Galle überzieht in großer Menge die Darmwände. Unter dem Mikroskop ist eine Totaldesquamation des Epithels und eine blutige Durchtränkung der gesamten Schleimhaut zu sehen. SEDAN und HERMANN (71) nehmen an, daß die beschriebenen Schäden bei Hunger ebenfalls auf eine Einwirkung der Galle zurückgehen.

Diese Beobachtungen deuten eine Möglichkeit der Virusaufnahme an, nämlich die der parazellulären Resorption.

Seit den von HERBST (40) 1843 durchgeführten Experimenten wissen wir, daß die intakte Darmschleimhaut durchaus für großkorpuskuläre Elemente durchgängig ist, die dann in das Blut gelangen und unverändert durch die Nieren ausgeschieden werden. Diese Befunde wurden in der Folgezeit von MARFELS und MOLESCHOTT (56), WASSILIEFF-KLEIMANN (81), HIRSCH (41), VERZAR (79) und neuerdings von VOLKHEIMER (80) bestätigt.

WASSILIEFF-KLEIMANN berichtet, daß Carmin und Tusche, dem Futter von Kaninchen beigemengt, in den Follikeln sämtlicher Peyerschen Plaques in großer Menge wiedergefunden werden konnten.

VERZAR stellte sich die Resorption der von ihm - wie auch schon von HERBST - verwendeten Stärkekörner so vor, daß die den Darm füllenden harten Körner, deren Größe zwischen o,o2 mm und o,1 mm liegt, durch peristaltische Bewegungen auf das Epithel gepreßt, entweder durch die Fettsubstanz zwischen den Epithelzellen oder durch einen kleinen zufälligen Epitheldefekt durchschneiden und so in das interstitielle Gewebe oder eine Blutkapillare gelangen. Von einigen Milliarden Stärkekörnern, die er in den Darm gab, wurden etwa 40 durch den Harn ausgeschieden.

VOLKHEIMER hat in den letzten Jahren die Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für großkorpuskuläre Elemente mit verschiedenen Modellkörpern geprüft. Seine Untersuchungen haben folgendes gezeigt: Sowohl die klinisch intakt erscheinende Dünndarmschleimhaut wie auch die Colonschleimhaut kann großkorpuskuläre Elemente hindurchtreten lassen. Der Abtransport dieser Elemente nach Durchtritt durch die Darmschleimhaut erfolgt durch die mesenterialen Lymphgefäße und mit dem Chylus über den Ductus thoracicus in die Blutbahn. Mit dem Blut gelangen diese Elemente in fast alle Organe. Die Größe dieser die Darmschleimhaut durchdringenden korpuskulären Elemente kann bis 65 µ Durchmesser betragen, vereinzelt können auch Körper bis 95 µ durch das Darmepithel hindurchtreten. Ein vermehrter Nachweis von großkorpuskulären Elementen erfolgt, wenn der Abtransport durch die mesenterialen Lymphknoten gefördert wird. Dies ist bei der Fettresorption der Fall.

Daß die Resorption von Partikeln solcher Größenordnungen nur parazellulär erfolgen kann, ist ohne weiteres einleuch-

tend, wenn man sich die Ausmaße der Darmepithelzelle von 8/u Durchmesser und 30/u Höhe vor Augen hält; Chylomikronen messen zwischen o,1/u und 1/u. Ein Durchtritt so großer Elemente, wie von VOLKHEIMER beschrieben, muß also an Stellen der Darmschleimhaut geschehen, die Epitheldefekte aufweisen. Diese Defekte entstehen auf Grund des physiologischen Desquamationsprozesses an den Zottenspitzen, wie FRIEDMANN (27) nachgewiesen hat. Im Dünndarm liegt die Germinativzone in der Tiefe der Lieberkühnschen Krypten; von hier wandert die Darmepithelzelle im Zuge ihrer Reifung zur Zottenspitze und schilfert, meist im größeren Verbande, ab. Die Reifung bezw. Wanderung der Epithelzellen läßt sich nach FRIEDMANN durch Röntgenbestrahlung und nach WINTROBE et al. durch Pantothensäuremangel hemmen; dabei kommt es zu erheblichen Epithelverlusten an den Spitzen der Villi.

Bei dem "HERBST-Effekt" (d.h. der Resorption großkorpuskulärer Elemente durch die "intakte" Darmschleimhaut) gelangt nur ein geringer Teil der in unphysiologischen Mengen zugeführten Korpuskeln zur enteralen Aufnahme; es ist also ein besonderer Fall von parazellulärer Resorption.

Zur Erhöhung der Resorptionsquote könnte nun die desquamationsfördernde Wirkung der Galle, wie sie nach den morphologischen Beobachtungen von ARLOING et al. (3), SEDAN und HERMANN (71) anzunehmen ist, ausgenutzt werden, womit die Chance, daß auch in physiologischer Anzahl angebotene Partikel die Epithelschranke teilweise überwinden, vergrößert würde.

Nun wissen wir allerdings nicht, auf welche Weise lebend in den Darm gelangte Krankheitserreger - hier speziell das Poliovirus - die Epithelschranke überwinden(59).

(5) Wo erfolgt die Vermehrung des Poliovirus, die sich in dem Virusgehalt des Stuhles von Infizierten spiegelt und die von einigen Tagen bis zu einigen Wochen dauern kann?

Findet diese Vermehrung in den muralen vegetativen Nervengeflechten des Darmes statt, in dessen Muskulatur, in den Peyerschen Plaques? Geht das Virus durch die Darmepithelzellen in die Lymphbahnen und von hier in die Blutbahn?

Es ist nicht bekannt, welcher Art der Vorgang ist, der diesen Übertritt ermöglicht (BEHREND, 5). PETTE denkt daran, daß nur Viruspartikel in die Lymphbahn übergehen, die durch die Zellen wieder zum Vollvirus synthetisiert worden sind.

Dieser Anschauung stehen die in jüngster Zeit durchgeführten, sehr aufschlußreichen Untersuchungen von RAETTIG (61, 62, 63) entgegen. Der Autor fütterte Mäuse mit T_3-Phagen, die sich im Darmepithel nicht vermehren können. Bereits nach wenigen Minuten sind die Phagen im strömenden Blut nachweisbar. Es wird daraus geschlossen, daß das Virus die Darmwand parazellulär und unverändert passiert.

Nach oraler Zufuhr eines mäusevirulenten Col.-SK-Stammes (Parapoliomyelitis) ist das Virus bereits nach 15 Minuten im strömenden Blut nachweisbar. Diese Resorptionsviraemie, die von der Pathogenität des Virus unabhängig ist und auch nach Fütterung sehr kleiner Mengen auftritt, wird von einer dosis- und virulenzabhängigen Infektionsviraemie gefolgt.

Somit besteht kein Zweifel, daß Viren nach oraler Zufuhr selbst kleiner Mengen die Darmepithelschranke unempfänglicher Tiere überwinden können.

Es fragt sich, ob das Poliovirus beim Meerschweinchen überhaupt die Darmwand erreicht, oder ob es schon, etwa durch den Magensaft oder den Darminhalt zerstört wird, ehe es zur Resorption kommen kann.

Daß das Virus das saure Milieu des menschlichen Magens unbeschadet passiert, zeigen Untersuchungen von BARSKI und Mitarbeitern. In einem, später zu beschreibenden, eigenen Versuch behielt das Poliovirus bei einem 45-minütigen Auf-

enthalt im Meerschweinchenmagen seine Infektiosität.

HECKE (34) hat das Virus der Encephalomyelitis enzootica suis (Teschener Krankheit der Schweine), ein dem Poliomyelitiserreger vergleichbares Virus, Haltbarkeitsprüfungen unterworfen: Im fermentreichen Dünndarminhalt des Schweines war zwar ein langsamer, vielleicht auf einen Abbau zurückzuführender Virusverlust festzustellen, das Virus blieb aber trotzdem noch mehrere Tage erhalten und war auch bei allen Versuchsschweinen viele Tage lang im Mastdarminhalt zu finden.

Bei Versuchen mit Ratten, denen das Teschener-Virus per os eingegeben worden ist, war das nicht der Fall: ihr Kot blieb vom ersten Tag an virusfrei. Es ist denkbar, daß das Virus bei diesen, für Schweinelähmung nicht empfänglichen Tieren im Verdauungstrakt wie Nahrungsprotein abgebaut wird. Die Empfänglichkeit einzelner Tierarten für eine alimentäre Virusinfektion würde so maßgeblich von verdauungsphysiologischen Verhältnissen abhängen.

EBEL (18) beobachtete, daß nach Zuführen von Galle die Darmpermeabilität für natives Fremdeiweiß (mit antigener Wirksamkeit) erhöht wird. Er führte dies auf die Grenzflächenaktivität der Galle zurück. Es ist denkbar, daß durch Dispergierung der Viruspartikel ihre Resorption erleichtert bezw. beschleunigt wird: Schüttelt man Ruß mit etwas Wasser und gießt die Mischung auf ein vorher angefeuchtetes Filter, so bleibt der Ruß auf dem Filter zurück, während das Wasser farblos hindurchläuft; wiederholt man den Versuch unter Zugabe einer grenzflächenaktiven Substanz, so sieht man, daß der größte Teil des Rußes durch das Filter geht und mit der wässrigen Lösung eine tiefschwarze Dispersion bildet (47).

THIMANN und auch ALEXANDER und TOMLINSON (46) nehmen eine Öffnung der "Poren" in der Zellmembran durch oberflächenaktive Substanzen an, um die Aufnahme gewisser Stoffe in das Zellinnere, die nur bei Anwesenheit von Desoxycholat statt-

findet, zu erklären. In Übereinstimmung mit FISCHER hat KINDT (46) in Atmungsversuchen gezeigt, daß eine Behandlung von Bakterien mit Natriumdesoxycholat deren Baustoffwechsel tiefgreifend schädigt, während der Energiestoffwechsel zunächst kaum angegriffen wird. Wenn dies auf tierische Zellen übertragbar ist, so wäre eine erhöhte Anfälligkeit derselben unter der Wirkung von Detergentien zu diskutieren.

Die Befunde von STACEY und WEBB (46) besagen, daß zwischen der bakteriostatischen Wirksamkeit nahe verwandter Gallensäuren und ihrer Fähigkeit, die Oberflächenspannung zu senken, eine einfache Beziehung besteht. Die diesbezüglich stärkste Wirkung kommt der Desoxycholsäure zu. Letztere wird - neben Lithocholsäure und Chenodesoxycholsäure - erst im Darm durch die darin enthaltenen Mikroorganismen aus der mit der Galle ausgeschiedenen Cholsäure - einem Endprodukt des Cholesterinstoffwechsels - gebildet. LEMBKE (46) konnte eine Reduktion von Cholsäure zu Desoxycholsäure durch Escherichia coli, nicht aber durch andere Darmkeime nachweisen. Damit hängt vielleicht zusammen, daß ENCRANTZ und SJÖVALL (21) im physiologischerweise colifreien Darm von Säuglingen überhaupt keine Desoxycholsäure fanden.

Dieser Aspekt ist insofern bemerkenswert, als in der Darmflora des gesunden Meerschweinchens Bacterium coli nicht vorkommt (22), somit auch eine Reduktion der weniger oberflächenaktiven Cholsäure zu Desoxycholsäure nicht stattfinden kann. Dagegen ist diese Möglichkeit durch Anwesenheit von Bacterium coli beim kranken Tier (22) gegeben, wie auch bei dem im Robert Koch-Institut untersuchten Meerschweinchen Escherichia coli im Darminhalt nachgewiesen wurde.

Als eine weitere Wirkung der Gallensäuren sind auch Änderungen im elektrischen Potential der Zelloberfläche und der Viren zu erwägen, die einer Virusadsorption und -resorption förderlich sind.

Es sind also hauptsächlich vier resorptionsverbessernde Wirkungen der Galle anzunehmen:

1. Förderung der Epitheldesquamation
2. Dispergierung der Viruspartikel
3. Öffnung der "Poren" der Zellmembran
4. Änderung der Ladungsverhältnisse zwischen Zellmembran und Virus

Ferner ist an eine indirekte Wirkung der Galle über eine Förderung der Fettresorption zu denken, da großkorpuskuläre Elemente und wohl auch Viren in gleicher Weise wie die Fette von dem Lymphsystem aufgenommen werden (80).

Bevor im Tierexperiment versucht werden soll, die resorptionsfördernde Wirkung der Galle auszunutzen, sollte der Einfluß der Galle auf die Viren selbst untersucht werden, um hierbei eigene Erfahrungen zu sammeln.

II. Die Wirkung der Galle auf Viren

Die ältesten Untersuchungen über eine Wirkung der Galle auf Viren beziehen sich auf den Erreger der Tollwut.

FRANTZIUS (26), der erste Autor (1898), der seine Aufmerksamkeit darauf richtete, glaubte gefunden zu haben, daß in der Galle eines an Lyssa eingegangenen Tieres sich ebenso wie bei der Rinderpest (R. KOCH) spezifische Schutzstoffe entwickeln.

Im Jahr darauf wies jedoch VALLEE (78) nach, daß diese Annahme unrichtig war, da Galle von nicht erkrankten Tieren ganz dieselbe Eigenschaft besaß. Außerdem fand er, daß die Wirkung der Galle durch zehn Minuten langes Erhitzen auf 110°C nicht aufgehoben wird und folgerte, daß die Galle ein "bloßes Antisepticum" sei.

Die inaktivierende Eigenschaft der Galle in Bezug auf das Rabiesvirus wurde 1900 von KRAUS (49) und 1906 von LESIEUR (54) vollauf bestätigt.

LESIEUR - wie auch später v.EISLER (19) - konnte zeigen, daß die isolierten Gallensalze dieselbe Wirkung besitzen, wie sie die Galle normaler oder an Rabies erkrankter Tiere entfaltet (ebenso auch die menschliche Galle). In gleicher Konzentration wie in der Galle angewandt, zerstören die Gallensalze das Tollwutvirus innerhalb weniger Minuten, ohne daß eine antigene Eigenschaft erhalten bleibt: Eine Verimpfung dieses, durch Galle oder deren Salze inaktivierten Lyssavirus schützt nicht vor späteren Infektionen mit reinem Virus.

Dagegen untersuchten LANDSTEINER et al. (51) und ZAPPERT et al. (83) 1911 unabhängig voneinander das Verhalten des Poliomyelitiserregers gegenüber der Galle von gesunden und an Poliomyelitis erkrankten Affen und kamen zu dem überein-

stimmenden Ergebnis, daß das Poliovirus einen (vierstündigen) Kontakt mit Galle ohne eine feststellbare Beeinträchtigung übersteht.

In der Folgezeit wurde die Beeinflussung verschiedener Viren durch Galle und ihre Salze von mehreren Autoren untersucht, wobei galleempfindliche wie auch resistente Arten gefunden wurden.

SMITH (73) faßte 1939 die bis dahin gesammelten Erfahrungen in einem Aufsatz "The action of bile salts on viruses" zusammen. Er selbst hatte die grenzflächenaktiven Eigenschaften des Natrium-Desoxycholats zur Förderung der Ausbreitung von Influenzaviren in Mäuselungen ausnutzen wollen und sah dabei, daß das Influenzavirus durch das Gallensalz augenblicklich und vollständig inaktiviert wurde. Versuche, das Virus-Gallensalz-Gemisch durch Verdünnungen zu reaktivieren, wie es bei vielen durch spezifische Immunseren inaktivierten Viren gelingt, hatten keinen Erfolg.

Daher muß es sich bei der Galle um einen grundsätzlich anderen Wirkungsmechanismus handeln, der zu einer tiefergreifenden Alteration der empfindlichen Viren führt, wobei für die Galleempfindlichkeit eine bestimmte Eigenart der Struktur oder Zusammensetzung der infektiösen Elemente verantwortlich sein kann.

Inaktivierungsversuche der galleempfindlichen Viren mit anderen Chemikalien brachten darüber weiteren Aufschluß.

BURNET und LUSH (11) untersuchten die Wirkung verschiedener grenzflächenaktiver Stoffe auf Viren und konnten feststellen, daß genauso wie Natrium-Desoxycholat auch das ebenfalls anionenaktive Natriumlaurylsulfonat, wie aber auch das nichtionogene Saponin, einen selektiven, inaktivierenden Effekt auf gewisse Viren haben. In gleicher Weise wie die Tenside wirkt auch das Lipoidlösungsmittel Diaethylaether auf Influenzaviren. Ähnliches beschrieben BIELKA und GRAFFI (10) für das Virus der myeloischen Leukaemie der Maus und das Rous-Sarkom-Virus.

Dies gibt einen Hinweis auf einen denkbaren Inaktivierungsmechanismus der Desoxycholsäure; indem sie nämlich mit Fettsäuren stabile, molekulardisperse Additionsverbindungen eingeht, übt sie möglicherweise auf integrierende Lipoidbausteine eine strukturlösende Wirkung aus.

BALL und BARNETT (4) lösten mit Desoxycholat aus Succinat- und DPNH-Oxydasesystemen des Herzmuskels 50 % der Trockensubstanz in Form von Lipoiden.

So ist es wahrscheinlich, daß den Lipoiden eine Beteiligung am Aufbau der galleempfindlichen Viren und eine wesentliche Bedeutung für deren Infektiosität zugesprochen werden muß.

Zum anderen gelang LITTLEFIELD et al. (55) die fast quantitative Herauslösung von Ribonukleinproteinpartikeln aus der Mikrosomenfraktion der Leber mit Hilfe von Natrium-Desoxycholat.

Dies leitet über zu den interessanten Beobachtungen über die Empfindlichkeit von ARBO-Viren gegenüber Desoxycholat, die von ANDERSON und ADA (1) gemacht wurden: Ebenso wie durch konzentriertes Phenol (GIERER und SCHRAMM) wird durch Desoxycholat aus dem ungereinigten Murray-Valley-Encephalitis-Virus eine Substanz freigesetzt, die für den Hühnerembryo infektiös ist und durch Ribonuklease zerstört wird. Es wird daher angenommen, daß durch die Behandlung mit Desoxycholat Ribonukleinsäure freigesetzt wird.

THEILER (77) fand bei seinen Studien über die Desoxycholatempfindlichkeit der durch Arthropoden übertragenen Viren, die sämtlich inaktiviert werden, die mit dem Stuhl ausgeschiedenen Viren wie Poliomyelitis-, Coxsackie- und Theiler-Virus als resistent gegenüber der Desoxycholsäure, ja er fand sogar in der Regel eine leichte Titererhöhung.

Ein Vergleich der Sensibilität einer ausgewählten Anzahl von Viren gegenüber der Behandlung mit Diaethylaether und Natrium-

Desoxycholat durch SUNAGA, TAYLOR und HENDERSON (76) ergab offenbar identische Resultate mit beiden Reagentien. Sowohl Diaethylaether als auch Natrium-Desoxycholat inaktivierten alle getesteten ARBO-Viren und Influenzaviren A und B. Dagegen konnten Polioviren, Coxsackie-Viren, ECHO-Viren und Adenoviren, soweit sie untersucht wurden, weder durch Aether noch durch Desoxycholat inaktiviert werden. Die Anwendung dieser Substanzen zur Virusklassifizierung wurde von den Autoren diskutiert.

In seinem Aufsatz über die Bedeutung der Lipide in animalischen Viren versucht FRANKLIN (25) eine Einteilung der Viren nach ihrem Lipidgehalt. Zu den Viren mit peripheren Strukturlipiden zählt er unter anderem die Myxoviren, die ARBO-Viren, die Maserngruppe, die Herpesviren, das Tollwutvirus. Sie werden durch Lipidlösungsmittel und grenzflächenaktive Substanzen zerstört.

Demgegenüber, so postuliert der Autor, sind die Viren, die keine Strukturlipide bezw. keine peripheren Strukturlipide enthalten, gegenüber der Einwirkung von Tensiden oder Diaethylaether resistent. Zu den resistenten Viren werden gerechnet: Die Enteroviren, die Adenoviren, die Pockenviren und andere.

Während die kleinen Viren - darunter das Poliovirus - nur aus den integrierenden Bestandteilen Nukleinsäure und Protein aufgebaut erscheinen, wurden bei den Influenzaviren Lipide und Polysaccharide und bei den ARBO-Viren Lipide, Fettsäuren und Cholesterin als zusätzliche Bausteine isoliert (65).

Durch Behandlung der Influenzaviren mit Lipidlösungsmittel bricht man die etwa 110 m/u großen Elementarteilchen auf, und es entstehen haemagglutinierende Bruchstücke von ca. 38 m/u Durchmesser, die Protein, aber keine Nukleinsäure enthalten (65). LAVER (53) hat in eindrucksvollen Aufnahmen die Zerreißung von Influenzaviren durch Natrium-Dodecylsulfonat oder Natrium-Desoxycholat unter dem Elektronenmikroskop sichtbar machen können.

Hier besteht eine Parallele zu den Bakterien. Keime, die nicht der physiologischen Darmflora angehören, sind nämlich - soweit das untersucht wurde - desoxycholatempfindlich. KINDT (46) hat besonders bei den Keimen des Staphylokokkenstammes 623-R durch Zusatz von Natrium-Desoxycholat zur Nährbouillon morphologische Alterationen beobachtet, die auf eine erhebliche Desintegration in der Funktionsstruktur der Mikroorganismen schließen lassen. Bei zusätzlicher Gabe von Antibiotika, gegen die der genannte Bakterienstamm eine hohe Resistenz aufweist, konnten mikroskopisch wahrhaft groteske Formveränderungen mit Riesenwuchs bis auf das Fünfzehnfache der Normalgröße beobachtet werden.

Eigene Versuche sollen im Folgenden das unterschiedliche Verhalten zweier Modellviren - lipoidhaltiges

Myxovirus (Influenzavirus) und lipoidfreies Entero-
virus (Poliomyelitisvirus) - gegenüber der Galle bezw. ihren
grenzflächenaktiven Wirkstoffen, den Gallen-
säuren, aufzeigen.

Eigene Experimente

A) Untersuchungen über den Einfluß von Gallepräparaten auf Influenza- und Poliomyelitisviren

1. Influenzaviren

Als Testvirus wurde eine über Hammel-Erythrozyten gereinigte Suspension von Influenza A-Virus, Stamm PR 8, mit dem HA-Titer 1 : 10 240 bezw. 1 : 20 480 benutzt.

Konzentrierte Blasengalle vom Rind wurde mit 0, 15 M phosphatgepufferter Kochsalzlösung (pH 8, 92) auf 1 : 50 verdünnt und durch bakteriendichte Glasfilter filtriert.

100 mg Natrium-Desoxycholat MERCK 6504 (3, 12- Dihydrocholansaures Natrium mit der Summenformel $C_{24}H_{39}O_4.Na$ und dem Molekulargewicht 415) wurden in 50 ml der 0, 15 M Kochsalzlösung aufgelöst und filtriert.

Bei dem ersten Versuch wurden von der gereinigten PR 8 Virus Stammsuspension Verdünnungen von 10^{-4} bis 10^{-8} hergestellt, die mit der 1 : 50 verdünnten Rindergalle versetzt und 60 Minuten bei 37°C bebrütet wurden. Statt der Rindergalle ist in der Kontrolle 0,15 M gepufferte Kochsalzlösung verwendet worden.

Im Anschluß an die Einwirkung der Galle wurde im Brutei (siehe Tab. I) die Vermehrungsfähigkeit der Influenzaviren geprüft.

Im zweiten Versuch wurden 5 ml gereinigter PR 8-Virussuspension mit dem HA-Titer 1 : 20 480 (bezogen auf 0,1 ml; das entspricht also ungefähr $2x10^5$ haemagglutinierenden Einheiten im Milliliter) mit 5 ml der Desoxycholat- bezw. Gallelösung versetzt. Zur Kontrolle wurden statt dessen 5 ml der Kochsalzlösung benutzt.

Endkonzentrationen:

PR 8 10^5 HE / ml
NaDC 1 mg / ml
Galle (konz.) 1 : 100

Nach einem Brutschrankaufenthalt bei 37°C für 60 Minuten kamen Proben von allen drei Ansätzen zur quantitativen Haemagglutinationsprüfung (s. Tabelle II).

Zur Überprüfung der Vermehrungsfähigkeit der Influenzaviren wurden je 0,2 ml Virussuspension - im zweiten Versuch in fallenden Konzentrationen von 10^{-1} bis 10^{-4} - mittels einer Spritze in die Allantoishöhle lebender, 9 Tage vorgebrüteter Hühnereier gegeben, die anschließend weitere 48 Stunden bei 37°C bebrütet wurden. Wegen der toxischen Wirkung der Desoxycholsäure durfte die Lösung nicht konzentrierter als 10^{-1} (100 γ Na DC / ml) in die Eier kommen.

Die Ernte der Allantoisflüssigkeit erfolgte, nach zwölfstündigem Kaltstellen der Eier bei + 4°C zur Vermeidung von Blutungen, durch vorsichtiges Eröffnen der Allantoishöhle und Abpipettieren des Inhalts.

Der visuelle Haemagglutinationstiter wurde in logarithmischen Verdünnungen beginnend bei 1 : 4 mit 0,15 M Kochsalzlösung in gleichen Teilen mit Testlösung und 0,5 %-iger Hühnererythrozytenaufschwemmung bestimmt (dargestellt in Tabelle III).

Zusätzlich wurden Gallensäurepräparate, die von Herrn Prof. Lembke, Institut für Virusforschung und experimentelle Medizin in Sielbeck/Eutin, zur Verfügung gestellt worden waren, auf ihre inaktivierende Wirksamkeit gegenüber Influenzaviren überprüft. Dabei handelte es sich um die Präparate I.U. 1162, I.U. 2162, I.U. 3162, I.U. 5162, I.U. A 1/163, I.U. A 2/163 und I.U. A 3/163, deren Zusammensetzung von Herrn Dipl.Chem. Blümel, Robert Koch-Institut, mittels Dünnschichtchromatographie, dargestellt in Tabelle VIIa, geprüft wurde.

In der ersten Versuchsreihe mit dem Stamm PR 8 wurde jeweils 1 ml Influenzavirussuspension pro Ei mit je 1 ml der 1 : 500 in Parker-Medium-verdünnten Gallensäurepräparate I.U. 1162, I.U. 2162, I.U. 3162 und I.U. 5162 zusammengegeben und eine

Stunde bei 37°C gehalten. Somit wirkten die Gallensäurepräparate in einer Verdünnung von 1 : 1000 auf die Viren ein. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz für jedes Ei mit Parker-Medium auf 10 ml aufgefüllt, so daß das Virus in 1/10 der Ausgangskonzentration und das Gallensäurepräparat in der Konzentration 1 : 5000 vorlag. Für jedes Gallensäurepräparat wurden 5 vierzehn Tage vorgebrütete Eier nach den Angaben von BERNKOPF (7) exembryoniert, mit je 10 ml des Ansatzes beschickt und im Rotator eine Stunde bei 37°C bebrütet. Nach Ablauf der Stunde wurde die infizierende Flüssigkeit abgegossen, das Ei zweimal mit steriler Kochsalzlösung ausgespült, mit 10 ml steriler Parker-Lösung aufgefüllt und wieder mit sterilem Linsenpapier abgedeckt. In bestimmten Abständen wurden 0,2 ml des Eiinhaltes zur Bestimmung des Haemagglutinationstiters entnommen (Anordnung I). Zur Kontrolle wurde 1 ml PR 8-Virussuspension pro Ei mit 1 ml Parkerlösung ebenfalls eine Stunde bebrütet und wie oben angeführt abgegossen und durch reines Parker-Medium ersetzt(AnordnungIII).

Um einen cytotoxischen Effekt der Gallensäurelösungen auszuschließen, wurden in weitere 5 exembryonierte Eier je 10 ml in Parker-Medium 1 : 1000 gelöste Gallensäurepräparate gefüllt und im Rotator 1 1/2 Stunden bei 37°C bebrütet. Darauf wurde die gallensäurehaltige Nährlösung abgegossen und nach zweimaligem Spülen mit physiologischer Kochsalzlösung durch 1 ml PR 8-Suspension und 9 ml Parker-Medium (Virusverdünnung 1 : 10) ersetzt, worauf die Eier im Rotator weiter bebrütet und in entsprechenden Abständen 0,2 ml des Eiinhaltes zur Haemagglutination entnommen wurden (Anordnung II).

Zur Haemagglutinationstiter-Bestimmung wurden die 5 Eier der Anordnungen I, II und III jeweils zusammengefaßt. In die Röhrchen wurden 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung vorgegeben, darauf von 0,5 ml der Testlösung eine Verdünnungsreihe angelegt und je Röhrchen 0,5 ml einer 0,5 %-igen Hühnererythrozytensuspension zugegeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV dargestellt.

Dasselbe wurde in einer zweiten Versuchsreihe, unter der gleichen Versuchsanordnung wie oben beschrieben, mit dem Influenzavirus-Stamm A2/Sing I 57 durchgeführt. Tabelle V zeigt die Ergebnisse. Da die Resultate trotz des relativ großen Arbeitsaufwands als zu unzuverlässig erschienen, wurde die Methode der exembryonierten Eier verlassen

In der dritten Versuchsreihe wurden je 20 mg der Gallensäurepräparate I.U. 1162, I.U. 2162, I.U. 3162, I.U. 5162, I.U. A 1/163, I.U. A 2/163 und I.U. A 3/163 in jeweils 10 ml 0,15 M gepufferter (pH 7,0) Kochsalzlösung steril gelöst und bakterienfrei filtriert. Hiervon wurden 5 ml mit 5 ml gereinigter PR 8-Virussuspension (Titer der NaCl-Kontrolle: 1 : 5120 von 0,1 ml ausgehend = $5{,}12 \times 10^4$ haemagglutinierende Einheiten pro Milliliter) zusammengegeben, gut vermischt und 60 Minuten bei 37°C gehalten. Anschließend wurde der Haemagglutinationstiter bestimmt.
Die Ergebnisse zeigt Tabelle VI.

Zur Überprüfung der Infektionsfähigkeit wurde in dieser dritten Versuchsreihe das Virussubstratgemisch in einer Verdünnung von 1 : 10 - um toxische Einflüsse der Gallensäurepräparate auszuschalten - mit je 0,2 ml/Ei auf insgesamt 5 Eier pro Präparat (jetzt 100 mcg/ml Gallensäuresubstanz) verimpft. Die Eier waren 10 Tage vorgebrütet, die Impfung in die Chorioallantoishöhle und die Bebrütung über 48 Stunden erfolgten wie früher angegeben. Reagierende Endkonzentrationen:

PR 8	$0{,}512 \times 10^5$ HE/ml
Gallensäuren	1 mg/ml

Die Ergebnisse sind aus Tabelle VII zu ersehen.

Tabelle I

1. Versuch: Der Einfluß von Rindergalle auf die Vermehrungsfähigkeit von Influenzaviren

Gemessen am Haemagglutinationstiter nach 48-stündigem Bebrüten im Hühnerei.

Virusverdünnung+	10^{-4}		10^{-5}		10^{-6}		10^{-7}	
Ei Nr.	K	G	K	G	K	G	K	G
1	5 120	< 10	10 240	-	2 560	-	10 240	< 10
2	2 560	< 10	5 120	< 10	-	-	< 10	< 10
3	2 560	< 10	-	< 10	10 240	< 10	< 10	< 10
4	5 120	< 10	10 240	< 10	-	< 10	< 10	< 10
5	-	-	2 560	< 10	2 560	< 10	< 10	< 10

+PR 8 (1:10240) Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.
K = Kontrolle G = Galle 1:100 - = abgestorben
Die Galle wurde nach der Virusverdünnung zugesetzt.

Tabelle II

2. Versuch: Der Einfluß von Rindergalle und Natrium-Desoxycholat auf die Haemagglutination von Influenzaviren

Gemessen am Haemagglutinationstiter nach 60 Minuten Kontakt.

Titration Nr.	DC	G	K
1	20 480	81 920	20 480
2	40 960	81 920	20 480

PR 8 (1:20480 Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.
K = Kontrolle G = Galle 1:100 DC = Na-Desoxycholat 1mg/ml

Tabelle III

2. Versuch: Der Einfluß von Rindergalle und Na-Desoxycholat auf die Vermehrungsfähigkeit von Influenzaviren

Gemessen am Haemagglutinationstiter nach 48-stündigem Bebrüten im Hühnerei.

Virusverdünnung+	10^{-1}			10^{-2}			10^{-3}		
Ei Nr.	K	G	DC	K	G	DC	K	G	DC
1	2 560	< 1	< 1	640	< 1	< 1	20 480	< 1	< 1
2	640	< 1	< 1	1 280	< 1	< 1	20 480	< 1	< 1
3	640	< 1	< 1	10 240	< 1	< 1	40 000	< 1	< 1
4	320	< 1	< 1	2 560	< 1	< 1	320 000	< 1	< 1

Virusverdünnung+	10^{-4}			10^{-5}		
Ei Nr.	K	G	DC	K	G	DC
1	5 120	< 1	< 1	20 480	< 1	< 1
2	160 000	< 1	< 1	320 000	< 1	< 1
3	40 000	< 1	< 1	640 000	< 1	< 1
4	-	< 1	< 1	160 000	< 1	< 1

+PR 8 (1:20480) Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.

K = Kontrolle G = Galle DC = Na-Desoxycholat 1mg/ml

Galle bezw. Desoxycholat wurde vor der Virusverdünnung zugesetzt.

Tabelle IV

1. Versuch: Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf die Vermehrungsfähigkeit von Influenzaviren-Stamm PR 8, Titer 1 : 5120

Gemessen am Haemagglutinationstiter nach 48-stündigem Bebrüten im exembryonierten Hühnerei.

Gallensäure-präparate +	I.U. 1162			I.U. 2162		
Stunden §	I	II	III	I	II	III
1				80	40	160
2	20	40	20	1280	160	1280
3	40	80	80	640	80	1280
18	2560	2560	2560			

Gallensäure-präparate +	I.U. 3162			I.U. 5162		
Stunden §	I	II	III	I	II	III
1	320	20	40			
2	20	20	20			
3	320	320	160	640	80	40
4	320	320	160	160	160	160

Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.

+ = Konzentration 1:1000. § = nach Abguß der infizierenden Lösung.

I = Virus-Gallensäurepräparat-Gemisch im nichtvorbehandelten exembryonierten Ei.

II = Virussuspension im mit Gallensäurepräparaten vorbehandelten exembryonierten Ei.

III = Leerkontrolle.

Tabelle V

2. Versuch: Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf die Vermehrungsfähigkeit von Influenzaviren, Stamm Asia I/57, 1 : 640

Gemessen am Haemagglutinationstiter nach 48-stündigem Bebrüten im exembryonierten Hühnerei.

Gallensäure-präparate +	I.U. 1162			I.U. 2162		
Stunden §	I	II	III	I	II	III
1	< 10	< 10	< 10			
2	< 10	< 10	< 10			
3	< 10	< 10	160	< 10	< 10	< 10
4				40	40	40
18	640	1280	1280	640	640	640

Gallensäure-präparate +	I.U. 3162			I.U. 5162		
Stunden §	I	II	III	I	II	III
3	< 10	20	20			
18				640	640	640
24	640	1280	1280			

Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.

\+ = Konzentration 1 : 1000

§ = nach Abguß der infizierenden Lösung

I = Virus-Gallensäurepräparat-Gemisch im nicht vorbehandelten exembryonierten Ei

II = Virussuspension im mit Gallensäurepräparaten vorbehandelten exembryonierten Ei

III = Leerkontrolle

Tabelle VI

3. Versuch: Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf die Haemagglutinationsfähigkeit von Influenzaviren PR 8, Titer 1 : 2560

Haemagglutinationstiter nach 60-minütigem Kontakt.

Gallensäurepräparat	Titer
I.U. 1162	2560
I.U. 2162	5120
I.U. 3162	2560
I.U. 5162	640
I.U. A 1/163	5120
I.U. A 2/163	5120
I.U. A 3/163	2560
Kontrolle	2560

Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.

Tabelle VII

3. Versuch: Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf die Vermehrungsfähigkeit von Influenzaviren PR 8, Titer 1 : 2560

Haemagglutinationstiter nach 48-stündigem Bebrüten im Hühnerei.

Gallensäure-präparat +	Ei Nr. 1	2	3	4	5
I.U. 1162	1280	640	640	1280	640
I.U. 2162	1280	160	1280	1280	2560
I.U. 3162	2560	2560	2560	1280	640
I.U. 5162	1280	2560	640	2560	2560
I.U. A 1/163	2560	640	320	320	160
I.U. A 2/163	<10	<10	<10	<10	<10
I.U. A 3/163	640	1280	2560	1280	1280
Kontrolle	2560	1280	1280	640	320

+ Konzentration 1 : 1000

Die Zahlen geben die reziproken Titerwerte an.

Tabelle VII a — Dünnschichtchromatographie von Gallensäure-Präparaten an Kieselgel-G

Reagenz-Lösung	R_f-Werte* Laufmittel 1	R_f-Werte* Laufmittel 2	Untersuchte Substanzen: JU 1162	JV 2162	JU 3162	JU 5162	JUA 1/163	JUA 2/163	JUA 3/163	Identität der nachgewiesenen Flecken
Molybdatophosphorsäure	0,41	0,75	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	DC oder CDC
	0,20	0,69	++	++	++	++	++(+)	+++	++	C
	0,12	0,61						++		nicht identifiziert (möglicherweise konjugierte Gallensäuren).
	0,08	0,60					+			
	0,06	0,53						++		
	0,06	—		+						
	0,00	0,06							++	
	0,00	0,02 od. 0,06						++		
	Laufmittel 3	Laufmittel 4								
Ninhydrin	0,16	0,07	++++	++		++++	++++	+++		nicht: Ala, Cys, CysH, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Oxypro, Phe, Proi, Ser, Threo.
	—	0,19			+				+	

* : Mittelwerte aus je 2-6 Läufen.

Laufmittel 1 : Toluol / Eisessig / Wasser = 5 : 5 : 1 (v/v)
" 2 : n-Butanol / Eisessig / Wasser = 10 : 1 : 1 (v/v)
" 3 : n-Butanol / Eisessig / Wasser = 3 : 1 : 1 (g/g)
" 4 : Äthanol / Wasser = 63 : 37 (g/g)

DC = Desoxycholat
CDC = Chenodesoxycholat
C = Cholat

Tabelle I zeigt, daß die 1 : 50 verdünnte Rindergalle, unabhängig von der Verdünnung des PR 8-Virus, dasselbe gegenüber der Kochsalzkontrolle vollständig inaktiviert.

Über die Beeinflussung der Haemagglutination durch Galle oder Desoxycholsäure im zweiten Versuch gibt die Tabelle II Auskunft. Man bemerkt einen Anstieg der Haemagglutinationsfähigkeit bei Galle um das vierfache gegenüber der Kontrolle.

Demgegenüber ergibt sich aus Tabelle III ein Verlust der Vermehrungsfähigkeit oder Infektiosität des Influenzavirus.

2. Polioviren

Zur Züchtung der Poliomyelitisviren wurden Kulturen von FL-Zellen benutzt, die mit Parker-Medium "199" ernährt wurden, das zum Schutz gegen bakterielle Verunreinigungen 200 IE Penicillin und 200 γ Streptomycin im Milliliter enthielt.

Die Toxizität der Gallensäuren auf die Kulturzellen wurde bestimmt; dabei lag die höchste, noch verträgliche Konzentration bei 10 γ / ml.

Analog zu den Influenzavirusversuchen wurden 100 mg Natrium-Desoxycholat (MERCK 6504) in 50 ml Parker-Medium aufgelöst und sodann durch Filtration keimfrei gemacht.

Davon wurden 0,2 ml mit 0,2 ml Virussuspension gemischt und anschließend für 60 Minuten bei 37°C in den Brutschrank gegeben. Die wirksame Menge Desoxycholatnatrium belief sich somit auf 1 mg auf 1 ml Virussuspension, entsprach also derjenigen, die mit den Influenzaviren reagierte.

Nach dem Ablauf der Reaktionszeit wurde eine Virustitration angesetzt. Unter Berücksichtigung der Zelltoxizität von Gallensalzen wurde das Virus-Desoxycholatgemisch mit Parker-Medium auf 10^{-2} bis 10^{-8} verdünnt; davon wurden je 0,25 ml in jedes der 5 Röhrchen gegeben, die pro Verdünnung angesetzt waren. Dazu kamen 0,25 ml, 10 % antikörperfreies Kälberserum enthaltendes Colormedium und 0,25 ml FL-Zellsuspension mit ca. 200 000 Zellen im Milliliter. Abgedeckt wurden die Röhrchen mit 0,5 ml Paraffinöl. Es liefen zwei Zellkontrollen mit: eine mit Natrium-Desoxycholat in der höchsten verwendeten Konzentration(0,01 mg/ml) und eine nur mit Nährlösung.

Die Titrationsreihen wurden darauf vier Tage bei 37°C bebrütet und am 4. Tag mikroskopisch abgelesen. Kriterium war der von den Polioviren induzierte cytopathogene Effekt.

Die Virusdosis, die 50 % einer Röhrchenreihe infizierte ($TCID_{50}$), wurde nach der von REED und MUENCH (64) angegebenen Methode bestimmt.

Untersucht wurden Repräsentanten der sogenannten "Wild-" und "Impfstämme" des Poliomyelitisvirus; von ersteren bei Typ I Mahoney, bei Typ II MEF_1 und bei Typ III Saukett. Von den "Impfviren" kamen die Sabinschen L Sc(a)-Stämme zur Anwendung.

Jedes Virus wurde in drei verschiedenen Ansätzen titriert.

Außerdem ist noch die Beeinflussung des "Impfvirus" Sabin III 12 b, das später zur oralen Immunisierung von Meerschweinchen verwendet werden sollte, durch Galle und Natrium-Desoxycholat geprüft worden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für "Wildviren" in Tabelle VIII und für die "Impfstämme" in Tabelle IX dargestellt. Zu jeder Titration ist die logarithmische Differenz zwischen Kontrolle und Desoxycholatwert berechnet.

Analog den obigen Untersuchungen wurde mit der gleichen Methodik eine zusätzliche Versuchsreihe durchgeführt, deren Ziel die Prüfung der von Herrn Professor Lembke zur Verfügung gestellten Gallensäurepräparate I.U. 1162, I.U. 2162, I.U. 3162 und I.U. 5162 bezüglich ihrer Wirkung auf Poliomyelitisviren war. Die Tabellen X und XI enthalten die Ergebnisse.

Tabelle VIII

Der Einfluß von Natrium-Desoxycholat auf Poliomyelitis-"Wildstämme"

Titer = $\log_{10}$ $TCID_{50}$ abgelesen am 4. Tag

Typ I, Mahoney

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
K	5,5	5,5	5,5
DC	5,74	5,83	6,49
DC - K	+ 0,24	+ 0,33	+ 0,99

Typ II, MEF_1

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
K	4,0	4,5	4,17
DC	5,86	5,5	6,0
DC - K	+ 1,86	+ 1,0	+ 1,83

Typ III, Saukett

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
K	3,5	4,62	4,83
DC	4,85	4,5	5,17
DC - K	+ 1,35	- 0,12	+ 0,34

K = Kontrolle DC = Natrium-Desoxycholat

Tabelle IX

Der Einfluß von Natrium-Desoxycholat auf Poliomyelitis-"Impfstämme"

Titer = $\log_{10}$ $TCID_{50}$ abgelesen am 4. Tag.

Typ I, Sabin LSc(a)

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
K	6,5	5,62	4,5
DC	6,37	6,17	4,62
DC - K	- 0,13	+ 0,55	+ 0,12

Typ II, Sabin LSc(a)

	1. Titr.	2. Titr.	3.Titr.
K	3,88	4,17	3,5
DC	3,5	3,5	3,37
DC - K	- 0,38	- 0,67	- 0,13

Typ III, Sabin LSc(a)

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
K	5,17	3,5	3,5
DC	5,46	3,62	3,83
DC - K	+ 0,29	+ 0,12	+ 0,33

K = Kontrolle DC = Natrium-Desoxycholat

Tabelle IX a

Der Einfluß von Rindergalle und Natrium-Desoxycholat auf den Poliomyelitis-Impfstamm Sabin III 12 b

Titer = $\log_{10}$ $TCID_{50}$ abgelesen am 4. Tag

K	5,62
DC	5,74
G	5,74
DC - K	+ 0,12
G - K	+ 0,12

K = Kontrolle

DC = Natrium-Desoxycholat 1 mg/ml

G = Galle 1 : 100

Tabelle X

Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf Poliomyelitis-"Wildstämme"

Titer = $\log_{10}$ $TCID_{50}$ abgelesen am 4. Tag.

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
Typ I, Mahoney			
Kontrolle	5,5	5,5	5,5
I.U. 1162	5,83	5,5	6,31
I.U. 2162	6,0	5,5	6,49
I.U. 3162	5,74	5,83	6,49
I.U. 5162	5,5	5,83	5,5
Typ II, MEF_1			
Kontrolle	4,5	4,0	4,5
I.U. 1162	5,86	6,0	4,17
I.U. 2162	4,5	5,5	5,62
I.U. 3162	4,62	5,56	5,5
I.U. 5162	5,0	5,83	6,0
Typ III, Saukett			
Kontrolle	4,17	4,62	4,49
I.U. 1162	3,5	4,5	5,17
I.U. 2162	4,5	5,5	4,83
I.U. 3162	4,83	4,83	5,5
I.U. 5162	4,17	4,62	4,5

Tabelle XI

Der Einfluß von Gallensäurepräparaten auf Poliomyelitis-"Impfstämme"

Titer = $\log_{10}$ $TCID_{50}$ abgelesen am 4. Tag.

	1. Titr.	2. Titr.	3. Titr.
Typ I, Sabin LSc(a)			
Kontrolle	5,5	5,5	4,17
I.U. 1162	5,62	5,83	4,5
I.U. 2162	5,62	5,17	4,5
I.U. 3162	4,37	5,17	4,0
I.U. 5162	4,5	5,62	4,37
Typ II, Sabin LSc(a)			
Kontrolle	3,62	3,83	3,83
I.U. 1162	3,83	3,62	3,17
I.U. 2162	3,62	3,62	3,37
I.U. 3162	3,5	3,5	3,37
I.U. 5162	4,37	3,5	3,5
Typ III, Sabin LSc(a)			
Kontrolle	4,62	4,5	4,17
I.U. 1162	5,62	4,5	4,17
I.U. 2162	5,84	4,5	4,0
I.U. 3162	5,46	4,83	3,5
I.U. 5162	5,0	4,62	3,83

B) Untersuchungen über die Verfütterung von Poliomyelitisviren an Meerschweinchen unter Verwendung resorptionsfördernder Substanzen

a) Material und Methoden

Serie I

Meerschweinchen von 238 g Minimal- und 410 g Maximalgewicht wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Trockenfutter-Pellets und Wasser ernährt.

Als Poliomyelitisantigen wurde der Typ III-Stamm Sabin 12b, suspendiert in Parker-Medium "199" mit einem Titer von $10^{6,5}$ (bezogen auf 0,25 ml) verwendet, der in einem zuvor beschriebenen Versuch (Tabelle IXa) durch Galle und Natrium-Desoxycholat keine Aktivitätseinbuße erlitten hatte.

Die konzentriert verwendete, sterile Rindergalle stammte aus der Nährbodenküche des Robert Koch-Institutes; hiervon wurden auf Empfehlung von RAETTIG Mengen von 0,25 ml an die Tiere verfüttert.

100 mg Natrium-Desoxycholat der Firma MERCK (6504) mit einem Reinheitsgrad von 99 %, bezogen auf wasserfreie Substanz, wurden in 2,5 ml Aqua bidestillata steril gelöst, so daß in 1 ml 40 mg Natrium-Desoxycholat enthalten waren.

Nach Angaben von HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (42) enthalten 100 ml Galle 0,4 bis 5,6 g Desoxycholsäure. Die verwendete Desoxycholatkonzentration würde also 4 g auf 100 ml Galle entsprechen.

Vor Beginn der Virusfütterung wurden alle neun Tiere herzpunktiert, und das gewonnene Serum wurde zur späteren Antikörpertiterbestimmung eingefroren. Von jedem Tier wurde eine Kotprobe gewonnen, um Polioviren auszuschließen.

Nachdem die Tiere einen Tag gehungert und gedurstet hatten, wurden die Meerschweinchen Nr. 4, 5, 6 mit 0,25 ml Rinder-

galle und die Meerschweinchen Nr. 7, 8, 9 mit 0,25 ml Na-Desoxycholatlösung gefüttert. Meerschweinchen Nr. 1, 2, 3 blieben als Kontrolltiere.

Nach Ablauf einer Stunde bekamen sämtliche Tiere je 0,25 ml Virussuspension mittels Pipette oral zugeführt. Darauf erhielten sie Futter.

Die zuerst täglich, später alle zwei Tage bis zu einer Gesamtdauer von acht Tagen entnommenen Analabstriche wurden zur Gewinnung einer ausreichenden Menge Kot mit einem sterilen Wattetupfer sehr sorgfältig gewonnen. Die Tupfer wurden in 5 ml Parker-Medium, das 20 000 IE Penicillin und 200 mg Streptomycin auf 100 ml enthielt, ausgewaschen und durch bakteriendichte Spezialspritzen filtriert.

50 ml große Erlenmeyerkölbchen, die einen frisch ausgewachsenen Rasen von FL-Zellen enthielten, wurden nach Erneuerung der Nährlösung (5 ml Parker-Medium) mit je 0,5 ml des Filtrats beimpft; pro Analabstrich und Tier ein Kölbchen. Nach durchschnittlich 5 Tagen Brutschrankaufenthalt bei 37°C wurden die Kölbchen mikroskopisch auf einen cytopathogenen Effekt überprüft. Von dem Kölbcheninhalt wurde, nach Sprengen der Zellen durch Einfrieren, je 1 ml in z w e i frische Zellkulturkölbchen gegeben, um die Erfolgsaussichten zu erhöhen. Gegebenenfalls wurde danach noch eine dritte Passage angelegt.

Genau drei Wochen nach der Virusfütterung wurden alle Tiere erneut herzpunktiert, um einen eventuellen Antikörperanstieg gegen Poliovirus im Serum nachzuweisen. Das Serum wurde gemeinsam mit dem vor der Virusfütterung gewonnenen in geometrischer Reihe mit Nährlösung verdünnt. Von den Verdünnungen kamen 0,25 ml zusammen mit 0,25 ml Zellsuspension (ca. 20 000 Zellen pro Milliliter) und 0,25 ml Antigen Sabin III 12b - dasselbe Virus, das auch zur Fütterung verwendet worden ist - in Titrierröhrchen, die mit 0,5 ml Paraffinöl abgedeckt wurden. Bebrütet wurde bei 37°C bis zur 100-fachen $TCID_{50}$, dann wurde mikroskopisch der cytopathogene Effekt abgelesen.

Die Meerschweinchen wurden, um zur Säurebestimmung des Mageninhalts ähnliche Verhältnisse wie bei der Impfung zu schaffen, nachdem sie wiederum einen Tag gehungert und gedurstet hatten, mit 0,25 ml Wasser aus einer Pipette gefüttert.

Meerschweinchen Nr. 1, 2 und 3 wurden nach 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden durch intracardiale Injektion von Evipannatrium getötet.

Die übrigen Meerschweinchen bekamen Wasser und Trockenfutter-Pellets (deren pH, in Wasser gelöst, zwischen 6 und 7 liegt) nach Belieben, bevor sie am folgenden Tag getötet wurden. Die Wasserstoffionenkonzentration des Mageninhalts wurde mit MERCK-Indikatorpapier bestimmt.

Bei sämtlichen Tieren wurden die lymphatischen Organe des Rachenringes, der Sublingual- und der Submandibularregion, sowie die Mesenteriallymphknoten entnommen und bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

Die sterile Zerkleinerung der Organe erfolgte durch Zerreiben im Mörser unter Zusatz von Seesand. Ein Teil Organbrei aus dem Mörser wurde mit vier Teilen Parker-Medium verdünnt und bei 1000 Upm 15 Minuten lang zentrifugiert und der Überstand durch bakteriendichte Spezialspritzen filtriert.

Die lymphatischen Kopf- bezw. Bauchorgane der Meerschweinchen Nr. 1, 2, 3 und Nr. 4, 5, 6 und Nr. 7, 9 (Nr. 8 war verendet und versehentlich verbrannt worden) wurden in drei Gruppen zusammen verarbeitet und je 0,5 ml des Filtrats einer Gruppe auf 2 Zellkulturkölbchen gegeben und über drei Passagen auf Virusvermehrung beobachtet.

Die Mägen von zwei Meerschweinchen wurden mit ihrem Inhalt in 10 ml 0,15 M sterile Kochsalzlösung eingelegt, der Inhalt gelöst und mit ca. zwei Tropfen Salzsäure auf pH 2 - dem bei der Sektion gefundenen Durchschnittswert - einge-

stellt. Dazu wurden 0,25 ml Suspension des Sabin III 12b-Virus (Titer $10^{6,5}$) gegeben und das Ganze genau 45 Minuten - der angenommenen Verweildauer des Speisebreis im Magen - bei 37°C bebrütet; sofort danach wurde der Mageninhalt mit Natriumbicarbonat auf pH 7 eingestellt, 15 Minuten bei 1000 Upm zentrifugiert und der Überstand bakterienfrei filtriert. 1 ml Filtrat pro Magen wurde in der Zellkultur bebrütet, von weiteren 0,25 ml eine Virustitration angesetzt; die Virusidentifizierung erfolgte durch typenspezifisch neutralisierendes Antikörperserum.

Serie II

Fünf Meerschweinchen - Nr. 11 bis 15 - mit einem Gewicht zwischen 352 g und 575 g wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Frischfutter (Karotten, Heu, weiße Rüben) ernährt. Nach Gewinnung von Kot- und Blutproben bekam jedes Tier nüchtern aus einer Pipette 2 ml Poliomyelitisvirus Typ I Mahoney (Titer $10^{5,5}$ bezogen auf 0,25 ml) gefüttert, das zu gleichen Teilen mit gewöhnlicher süßer Molkereisahne (Empfehlung von VOLKHEIMER) vermischt war.

Die über einen Zeitraum von 8 Tagen angefertigten Analabstriche wurden, wie früher beschrieben, aufbereitet und von dem Filtrat pro Tier zwei Zellkulturkölbchen mit je 1 ml beimpft.

Sofern die Tiere nicht schon vorher gestorben waren, wurden sie 31 Tage nach Virusaufnahme getötet, nachdem Blut für den Antikörpernachweis gewonnen worden war.

Die Meerschweinchen wurden seziert und die lymphatischen Rachen- und Bauchorgane der vorzeitig gestorbenen Tiere Nr. 11, 12, 14 und der getöteten Tiere Nr. 13, 15 zu zwei Gruppen verarbeitet und zum Virusnachweis auf jeweils zwei Zellkulturkölbchen pro Gruppe durch 2 Passagen gegeben. Von Meerschweinchen Nr. 12 und 14 wurden der Blinddarm mit Inhalt in einem Kölbchen pro Tier auf den Virusgehalt geprüft.

Bei der Serumantikörpertitration diente das zur Fütterung verwendete Mahoney-Virus als Antigen.

b) Versuchsergebnisse

Serie I

Sektionsbefunde:

Kontrolltiere (nach eintägiger Nahrungskarenz getötet)

Nr. 1 30 Minuten nach oraler Gabe von 0,25 ml H_2O getötet.

Kleiner Magen, der 2-3 ml grünen Brei enthielt. pH des Mageninhalts betrug 2 bis 3. Doppelseitige mäßige Pneumonie. Darm gebläht, Schleimhaut unauffällig.

Nr. 2 60 Minuten nach oraler Gabe von 0,25 ml H_2O getötet.

Magen enthielt 3-4 ml grünen, breiigen Inhalt; pH 2. Lungen weiß und etwas fest. Große Gallenblase, mit wasserheller Flüssigkeit gefüllt. Darm unauffällig.

Nr. 3 120 Minuten nach oraler Gabe von 0,25 ml H_2O getötet.

Praller kleiner Magen mit grünem, festem Brei gefüllt. pH 1 bis 2. Lungen und Darm ohne Befund.

Mit Rindergalle vorgefütterte Tiere (1 Tag nach eintägiger Nahrungskarenz getötet)

Nr. 4 Magen mit Nahrungsbrei prall gefüllt, der keine Änderung in Aussehen und Reaktion (pH 2) gegenüber den hungernden Tieren zeigt. Lungen und Darm einschließlich Schleimhaut bieten keinen krankhaften Befund.

Nr. 5 Fester Mageninhalt; pH 1 bis 2; alle inneren Organe unauffällig.

Nr. 6 Magen ist mit 5-6 ml dünnem Brei gefüllt; pH 1 bis 2; Befunde o.B.
(Das Tier ist trächtig mit 6 Foeten.)

Mit Na-Desoxycholat vorgefütterte Tiere (1 Tag nach eintägiger Nahrungskarenz getötet)

Nr. 7 Innere Organe unauffällig. Der Magen enthält 4 ml grünlichen Brei, pH 3.

Nr. 8 Das Tier ist in der Nacht nach der Herzpunktion verendet und versehentlich verbrannt worden.

Nr. 9 pH 1 bis 2. Organe o.B.
Darmschleimhaut vermehrt gerötet.

Tabelle XII

Serie I: Versuche zur Anzüchtung von Poliovirus aus dem Analabstrich von Meerschweinchen nach Fütterung von Sabin III 12b

	Kontrolltiere			mit Galle vorbehandelte Tiere			mit DC vorbehandelte Tiere		
Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Gewicht in Gramm	382	410	409	238	350	390	353	346	245
Geschlecht	m	m	w	m	w	w	w	w	w
prae vacc. 1. Passage	o	o	o	o	o	o	o	o	o
prae vacc. 2. Passage	o	o	o	o	-	o	o	o	o
prae vacc. 3. Passage	o	o	o	o	-	-	o	o	o
26 h post vacc. 1. Passage	o	o	o	o	o	o	o	o	o
26 h post vacc. 2. Passage	o ?	o o	o o	o o	? o	o o	o o	o o	o o
26 h post vacc. 3. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o
47 h post vacc. 1. Passage	o	o	o	o	o	o	o	o	o
47 h post vacc. 2. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o
47 h post vacc. 3. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o
89 h post vacc. 1. Passage	o	o	o	o	o	o	o	o	o
89 h post vacc. 2. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o
89 h post vacc. 3. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o
144 h post vacc. 1. Passage	o	o	o	o	o	o	o	o	o
144 h post vacc. 2. Passage	o o	o ?	o o	o o	o o	o o	? o	o o	o o
144 h post vacc. 3. Passage		o					o		
192 h post vacc. 1. Passage	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o o	o -	o o
192 h post vacc. 2. Passage	o o	o -	o o	o o	o o	o o	o o	o -	o o

Tabelle XIII

Serie I: Antikörpernachweis im Serum (Antigen: Sabin III 12b)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
prae vacc.	<1:4 tox	<1:4	<1:4	<1:4 tox	<1:8?	<1:4	<1:4	<1:4 tox	<1:4 tox
21 Tage post vacc.	<1:4 tox	<1:4 tox	<1:4	<1:4 tox	<1:4	<1:4	<1:4 tox	<1:4 tox	<1:4

DC = Natrium-Desoxycholat

Tabelle XIV

Série I: Versuche zur Anzüchtung von Poliovirus aus lymphatischen Organen von Meerschweinchen nach Fütterung von Sabin III 12b (3 Wochen post vacc.)

		Kontrolltiere	mit Galle vorbehandelte Tiere	mit DC vorbehandelte Tiere
Tier Nr.		1 + 2 + 3	4 + 5 + 6	7 + 9
Rachen	1. Passage	tox o	o o	o o
	2. "	o o	o o	o o
	3. "	o o	o o	o o
Bauch	1. Passage	tox o	o o	o o
	2. "	? o	o o	o o
	3. "	o o	o o	o o

Tabelle XV

Resistenzbestimmung von Poliomyelitisvirus Sabin III 12b (Titer $10^{6,5}$) in Meerschweinchenmägen bei pH 2

	1. Passage	Titration§	Typendifferenzierung
Magen I	+	4,37	Typ III
Magen II	+	5,17	Typ III

Mageninhalt: 10 ml Virussuspension: 0,25 ml Brutzeit: 45' bei 37°C

§Titer = $\log_{10}$ TCID

Serie II

Sektionsbefunde:

Nr. 11 wurde am 30. Tag nach der Fütterung tot aufgefunden; vorher keine Krankheitszeichen bemerkbar.

Großer, prall gefüllter Magen. Dünn-, Dickdarm teilweise und Blinddarm straff gefüllt. Colon descendens leer. Blase hochgefüllt. Leber und Nieren unauffällig. Lungen voll ausgedehnt, hell, nicht konsistenzvermehrt. Makroskopisch kein Anhalt für eine Todesursache.

Nr. 12 wurde am 24. Tag nach der Virusfütterung ohne erkennbare Ursache tot aufgefunden.

Magen klein, schlaff. Alle Darmteile einschließlich Blinddarm straff gefüllt. Colon descendens enthält kaum Kot. Darmschleimhaut unauffällig. Blase etwas gefüllt. Nieren, Leber Gallenblase äußerlich nicht verändert. Beide Lungen lassen bronchopneumonische Herde erkennen: Todesursache ?

Nr. 13 Magen und alle Darmabschnitte gut gefüllt. Leber und Nieren ohne Auffälligkeiten. Blase fast leer. Magen-Darmschleimhaut intakt. Pleura visceralis et parietalis zeigen in den basalen Abschnitten beiderseits kleinste, bis stecknadelkopfgroße weißliche Auflagerungen; in der Pleurahöhle ist reichlich klare Flüssigkeit. Vielleicht sind die Veränderungen durch die (intrathorakale?) Evipaninjektion hervorgerufen.

Nr. 14 ist 14 Tage nach der Virusfütterung überraschend verendet.

Sehr schlaffer, kleiner Magen. Blinddarm prall gefüllt, übrige Darmabschnitte leicht aufgebläht. Magen-Darmschleimhaut ohne sinnfällige Veränderungen. Blase reichlich gefüllt. Leber und Nieren ohne Krankheitszeichen. Lungen makroskopisch ohne Befund. Kein Anhalt für die Ursache des plötzlichen Todes.

Nr. 15 Gut gefüllter Magen und Darm, bis auf das leere Colon descendens und Rectum. Tadellose Schleimhaut. Leber sowie Nieren in Form, Größe und Konsistenz unverdächtig. Linke Lunge gerötet, Blut in der Pleurahöhle und Brustwandhaematom durch Herzpunktion.

Tabelle XVI

Serie II: Versuche zur Anzüchtung von Poliovirus aus dem Analabstrich von Meerschweinchen nach Fütterung von Mahoney

Tier Nr.	11	12	13	14	15
Gewicht in Gramm	454	452	501	352	575
Geschlecht	w	m	w	m	m
prae 1. Passage	- -	- o	- -	- -	o o
vacc. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
20 h 1. Passage	- -	- -	- -	- -	- -
post 2. "	- o	o o	o o	o o	o o
vacc. 3. "	o o	o o	o o	o o	o o
43 h 1. Passage	? o	o o	o o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
77 h 1. Passage	o o	o o	- o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
94 h 1. Passage	o o	o o	o o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
119 h 1. Passage	o o	o o	o o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
170 h 1. Passage	o o	o o	o o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o
218 h 1. Passage	o o	o o	o o	o o	o o
p.v. 2. "	o o	o o	o o	o o	o o

Tabelle XVII

Serie II: Antikörpernachweis im Serum (Antigen: Mahoney)

Tier Nr.	11	12	13	14	15
prae vacc.	< 1:4	< 1:4	< 1:4	< 1:4	< 1:4 tox
Tage	30	24	31	14	31
post vacc.	< 1:4	1:4 tox	< 1:4	1:8 tox	< 1:4

Tabelle XVIII

Serie II: Versuche zur Anzüchtung von Poliovirus aus lymphatischen Organen von Meerschweinchen nach Fütterung von Typ I Mahoney (31 Tage post vacc.)

	Tier Nr.	11 + 12 + 14	13 + 15
Rachen	1. Passage	tox o	o o
	2. "	o o	o o
Bauch	1. Passage	o o	o tox
	2. "	o o	o o

	Tier Nr.	12 + 14
Blind-darm	1. Passage	? o
	2. "	o o

III. Besprechung der Versuchsergebnisse

Die Untersuchungen über den Einfluß von Galle und Natrium-Desoxycholat auf das Influenzavirus haben ergeben, daß beide Substanzen die Infektiosität des Stammes PR 8 für das Brutei vollständig beseitigen.

Im ersten Versuch konnte nach Zugabe von Galle zu einer 10^{-4} bis 10^{-7} verdünnten Virussuspension kein vermehrungsfähiges Virus mehr nachgewiesen werden. Daß nicht ein toxischer Effekt der Galle auf die der Virusvermehrung dienenden Allantoiszellen hierfür verantwortlich ist, bewies der zweite Versuch: Auch nach einer bis zu 100 000-fachen Verdünnung der Galle bezw. der Natriumdesoxycholatlösung zusammen mit dem Virus blieb der Haemagglutinationstiter nach der Eipassage in allen Ansätzen unter der nachweisbaren Menge. In diesem Versuch reagierten die Testsubstanzen mit der hochkonzentrierten Virussuspension. Nimmt man mit FRIEDEWALD und PICKELS (74) als kleinste, im Brutei nachweisbare Virusmenge 10 infektiöse Einheiten an, so fiel in diesem Versuch der Virusgehalt nach Einwirkung der Galle bezw. der Desoxycholsäure - entsprechend der verimpften Menge von 0,2 ml/Ei - unter 50 infektiöse Einheiten/ml. Das bedeutet bei der hohen Ausgangskonzentration der verwendeten Virussuspension einen exzessiven Verlust an infektiösen Influenzavirus, wenn auch Infektiosität und Haemagglutinationsvermögen nicht gleichgesetzt werden dürfen.

Wie die Untersuchung des Haemagglutinationsvermögens unmittelbar nach der Einwirkung von Galle oder Desoxycholat gezeigt hat, erfährt dieses im Gegensatz zur Infektiosität nicht nur keine Verminderung, sondern eine deutliche Erhöhung. Dies kann mit der Beobachtung erklärt werden, daß Influenzaviren unter der Wirkung von lipoidlösenden bezw. grenzflächenaktiven Stoffen (65, 76) in haemagglutinierende Bruchstücke zerfallen.

Bei Prüfung der von Herrn Prof. Lembke stammenden Gallensäurepräparate im Hinblick auf ihre Fähigkeit, Influenzaviren

zu inaktivieren, konnte nur bei dem Präparat I. U. A 2/163 ein vollständiger Verlust der Infektiosität beobachtet werden. Im Dünnschichtchromatogramm weist diese Substanz im Vergleich mit den anderen eine besonders starke Beimischung mit möglicherweise konjugierten Gallensäuren auf. Dies deutet darauf hin, daß der virusinaktivierende Effekt eventuell stark von der Art oder Menge dieser Anteile beeinflußt wird.

Die Behandlung von Poliomyelitisvirus mit Natriumdesoxycholat und den beschriebenen Gallensäurepräparaten führte bei den Stämmen zu keinen wesentlichen Titerveränderungen gegenüber den Kontrollen. Lediglich fiel bei dem Stamm MEF_1 in allen drei Titrationen mit NaDC eine konstante Titererhöhung auf, die auch von SUNAGA, TAYLOR u. HENDERSON (76) für den Typ II beschrieben worden ist und für die eine Erklärung noch aussteht; wenn die Titererhöhung nur auf einer Desaggregation beruhte, müßte sie wahrscheinlich auch bei den anderen Typen zu finden sein.

In diesen vorangehenden Versuchen konnte an zwei Vertretern verschieden aufgebauter Virusgruppen, Myxoviren und Enteroviren, das grundsätzlich unterschiedliche Verhalten gegenüber der Galle bezw. dem Natriumdesoxycholat gezeigt werden. Die bei Enteroviren zu erwartende Resistenz gegenüber den Verdauungssäften konnte in Hinsicht auf die Galle für das Poliovirus bestätigt werden. Damit war die Voraussetzung gegeben, die resorptionsfördernde Wirkung der Galle für die orale Infektion von Meerschweinchen mit Poliomyelitisviren experimentell zu erproben.

In der Serie I wurde versucht, Meerschweinchen mit dem Poliovirus Sabin Typ III 12b bei Vorfütterung mit Natriumdesoxycholat oral zu infizieren.

Bei keinem der 9 Tiere gelang in dem Beobachtungszeitraum von 192 Stunden der Nachweis einer Virusausscheidung mit dem Kot, auch nicht bei Meerschweinchen Nr. 5, welches 26 Stunden

nach der Virusfütterung ein rasch vorübergehendes, an Krampfanfälle erinnerndes Verhalten zeigte, wobei dünnbreiiger Kot abgesetzt wurde.

Die Trächtigkeit des Meerschweinchens Nr.6, die als praedisponierender Faktor angesehen werden kann (59), förderte das Angehen einer Infektion nicht.

Das Serum der Tiere enthielt nach 21 Tagen keine neutralisierenden Antikörper gegen Poliomyelitis. Aus den Rachen- und mesenterialen Lymphknoten ließ sich drei Wochen nach der Virusfütterung in drei Passagen kein Virus anzüchten.

In zwei isolierten Meerschweinchenmägen nebst Inhalt wurde die Resistenz des Sabinschen Virus III 12b geprüft. Nach einer Einwirkungszeit von 45 Minuten, die als Verweildauer der Nahrung im Magen angenommen wurde, zeigte sich - bei Berücksichtigung des Verdünnungsgrades - nur ein unwesentlicher Titerverlust. Eine Inaktivierung des Virus im Magen des Meerschweinchens konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei der Serie II sollte der cholokinetische Effekt der Sahne ausgenutzt werden. Außerdem fördern Fette nach VOLKHEIMER (80) die Resorption korpuskulärer Elemente und den Abtransport über die Lymphwege. Fünf Meerschweinchen erhielten Poliomyelitisvirus Typ I, Stamm Mahoney, vermischt mit süßer Sahne.

Auch in dieser Serie wurde während 218 Stunden keine Virusausscheidung mit dem Kot beobachtet. Bei den am 24. und 14. Tag plötzlich verendeten Tieren Nr. 12 und Nr. 14 fand sich, im Gegensatz zu den anderen Tieren, im Serum ein Titeranstieg der neutralisierenden Antikörper gegen Typ I von 1 : 4 bezw. 1 : 8, wobei die Kulturzellen allerdingstoxische Veränderungen zeigten.

Die Blinddärme und lymphatischen Gewebe der Rachen- und Bauchorgane dieser beiden Tiere waren im Virusanzüchtungsversuch negativ.

Ob die einmalige Dosis von Galle oder Desoxycholat imstande ist, die Darmschleimhaut zu schädigen und zu verändern, wurde nicht überprüft. Daß die in den Versuchen verfütterte Menge dazu allein in der Lage ist, scheint nach den entsprechenden Angaben in der Literatur auch wenig wahrscheinlich; vielmehr muß mit der choleretischen Wirkung der Gallensalze gerechnet werden.

Die Möglichkeit ist nicht auszuschließen, daß mit einer höheren Dosis Galle oder auch Virus die Infektion von Meerschweinchen gelingt. Doch entsprachen die verfütterten Virusmengen etwa denjenigen, die von GRÜTZNER zum Teil mit Erfolg verwendet wurden, und sie lagen auch im Bereich der in oralen Impfstoffen zur Anwendung kommenden Konzentration (die erste Dosis Sabin-Impfstoff enthält 10^5 $TCID_{50}$ pro Milliliter).

Es ist aber auch die sehr unterschiedliche immunogene Kapazität der verschiedenen Poliostämme zu berücksichtigen. GARD und Mitarbeiter (29) zeigten in ihren schon früher erwähnten Experimenten an Meerschweinchen, daß der Stamm "Brunhilde" von allen Poliovirusstämmen die stärkste Produktion neutralisierender Antikörper bewirkt. Die immunogene Kapazität des Stammes MEF_1 ist hundertmal, die des "Leon"-Stammes um zehntausendmal schwächer. Von den SALK-Stämmen erreichte der Typ II (MEF_1) die höchsten Titer. Etwas weniger gut wirkte der Typ III (Saukett), während der Typ I (Mahoney) den schwächsten Effekt zeigte.

Eine andere Frage ist, welche Poliostämme überhaupt in der Lage sind, beim Meerschweinchen zu haften und sich anzusiedeln. Sind es nur solche Stämme, die den mäuseadaptierten nahestehen, oder aber - wie viele zur oralen Immunisierung benutzte Stämme - Nagetierpassagen durchlaufen haben? Oder ist prinzipiell jedes Poliovirus hierzu befähigt, wenn das Tier nur entsprechend disponiert ist, etwa durch Cortisongaben (72) oder "stress" im weitesten Sinne?

Wahrscheinlich spielen innere, d.h. spezifische Virus-eigenschaften, und äußere Faktoren zusammen, so vor allem auch Menge und Qualität der infektiösen Teilchen. In den oben dargestellten Fütterungsversuchen gelang es jedenfalls nicht, auch nicht unter Ausnutzung der von verschiedenen Autoren beschriebenen resorptionsfördernden Wirkung von Galle oder Natriumdesoxycholat, eine Ansiedlung von Poliomyelitisviren beim Meerschweinchen herbeizuführen. Die Versuche von GRÜTZNER lassen aber keinen Zweifel daran, daß eine Ansiedlung möglich ist.

Zusammenfassung

Anläßlich der "Spontaninfektion" eines Meerschweinchens mit Poliomyelitisvirus Typ III während der ersten Massenimpfung mit Cox-Impfstoff in Berlin sollte die experimentelle orale Infektion von Meerschweinchen mit Hilfe von Galle versucht werden.

Es wird an Hand der Literatur die Wirkung der Galle auf die Resorption beschrieben und speziell ihre Förderung der oralen Immunisierung aufgezeigt. Dabei werden mögliche Wirkungsmechanismen erörtert.

Über den Einfluß der Gallensäuren auf verschiedene Virusarten wird ein Überblick gegeben, wobei auf die Bedeutung der Lipoidbausteine für die Gallenempfindlichkeit eingegangen wird.

Durch eigene Untersuchungen wird die Galleresistenz der Polioviren und das gegensätzliche Verhalten der lipoidhaltigen Influenzaviren bestätigt.

Im Meerschweinchen-Fütterungsversuchen gelingt es mit Poliomyelitisvirus Stamm Sabin Typ III und Stamm Mahoney Typ I nicht, die Tiere bei gleichzeitiger Gabe von Galle, Desoxycholat oder Sahne zu infizieren. Ein sicherer Anstieg der neutralisierenden Antikörper gegen Polio erfolgt nicht. Weder aus dem Kot noch - nach Tötung der Tiere - aus den Mesenterial- oder Rachenlymphknoten kann Poliomyelitisvirus angezüchtet werden.

Die Untersuchungsergebnisse werden besprochen.

Schrifttum

1. ANDERSON, S.G. and ADA, G.L.
"Some aspects of the reaction between crude Murray Valley Encephalitis (MVE) Virus and desoxycholate"
Virology 8 : 270. 1959

2. ANDREWES, C.H. and HORSTMANN, D.M.
"The susceptibility of viruses to ethyl ether"
J.Gen.Microbiol. 3 : 290. 1949

3. ARLOING, F., NOEL, R., MARTIN, J.-F., SPASSITCH, B.
"Etude histologique du foi et de l'intestin dans l'anaphylaxie digestive experimentale du cobaye"
Compt.Rend.Soc.Biol. 93 : 528. 1925 II

4. BALL, E.G. and BARNETT, R.J.
"An integrated morphological and biochemical study of a purified preparation of the succinate and DPNH oxidase system"
J.Biophys.Biochem.Cytology 3 : 1023. 1957

5. BEHREND, R.Ch.
"Die akute Poliomyelitis"
Beitr.z.prakt.Med. H.36. 1955

6. BARON, S. and JENSEN, K.E.
"Evidence for genetic interaction between non-infectious and infectious influenza A viruses"
J.Exp.Med. 102 : 677. 1955

7. BERNKOPF, H.
"Cultivation of influenza virus in the chorio-allantoic membrane of deembryonateed eggs"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 72 : 680. 1949

8. BESREDKA, A.
"Immunité locale de l'intestin"
Presse méd. 1497. 1936

9. BESREDKA, A.
"Über lokale Immunisierung"
Naturwiss. 15 : 395. 1927

10. BIELKA, H. und GRAFFI, A.
"Über die Wirkung von Desoxycholsäure auf das Virus der myeloischen Leukaemie der Maus und das Rous-Sarkom-Virus"
Naturwiss. 46 : 404. 1959

11. BURNET, F.M. and LUSH, D.
"The action of certain surface-active agents on viruses"
Australian J.Exp.Biol.and Med.Sc. 18 : 141. 1940

12. CABASSO, V.J. et al.
"Cumulative testing experience with consecutive dots of oral poliomyelitis vaccine"
Brit.Med.J. I : 373. 1960

13. COMBIESCO, D. et CALALB, D.
"De l'immunisation contre le staphylocoque pyogène par voie buccale, chez le lapin"

14. COX, H.R., CABASSO, V.J. et al.
"Immunological response to trivalente oral poliomyelitis vaccine"
Brit.Med.Journ. II : 591. 1959

15. COX, H.R. et al.
"Immunization agianst poliomyelitis with a trivalent oral vaccine"
Path.Microbiol. 24, Suppl.61. 1961

16. DIETRICH, W.
"Resorption von Tetanus durch den Darm"
Klin.Wschr. 1160. 1922

17. DOLMAN, C.E.
"Oral immunization"
Amer.Journ.Med.Sci. 215 : 327. 1948
zit. BESREDKA (Ann.Inst.Past.32:193.1918)

18. EBEL, D.
"Über die Permeabilität der Darmschleimhaut für artfremde Proteine"
Zeitschr.f.Kinderheilk. 79 : 8. 1957

19. v.EISLER, M.
"Über Einfluß der Galle, Glycoside und Farbstoffe (Benzidinderivate) auf das Lyssavirus"
Cbl.Bakt., Abt.I, Orig. 45 : 71. 1908

20. EKDAHL, P.-H., SJÖVALL, J.
"On the conjugation and formation of bile acids in the human liver"
Acta Chir.Scand. 114 : 439. 1957

21. ENCRANTZ, J.-C., SJÖVALL, J.
"On the bile acids in duodenal contents of infants and children"
Clin.Chim.Acta 4 : 793. 1959

22. FISCHER, G.W.
"Beitrag zur Ursache des Penicillin-Todes bei Meerschweinchen"
Zbl.Bakt., Abt.I, Orig. 164 : 230. 1955

23. FLEXNER and LEWIS
"Experimental epidemic poliomyelitis in monkeys"
J.Exp.Me.d 12 : 227. 1910

24. FLEXNER and LEWIS
"Epidemic poliomyelitis in monkeys"
J.Am.Med.Assoc. 54 : 45. 1910

25. FRANKLIN, R.M.
"The significance of lipids in animal viruses"
Progr.Med.Virol. 4 : 1. 1962

26. FRANTZIUS, E.J.
"Die Galle toller Tiere als Antitoxin gegen Tollwut"
Cbl.Bakt. 23 : 782. 1898

27. FRIEDMANN, N.B.
"Cellular dynamics in the intestinal mucosa: The effect of irradiation on epithelial maturation and migration"
J.Exp.Med. 81 : 553. 1945

28. GARD, S.
"The virus of poliomyelitis"
Handbuch d. Virusforsch.v.Haullauer u.Meyer IV
Springer Verlag Wien (1958)

29. GARD, S. et al.
"The use of guinea pigs in test for immunogenic capacity of poliomyelitis virus preparations"
Arch.ges.Virusforsch. 6 : 401. 1956

30. GRÜTZNER, L.
Persönliche Mitteilung

31. HAJOS, K.
"Beiträge zur Aetiologie der anaphylaktischen Erkrankungen"
Wiener Klin.Wschr. I : 595. 1924

32. HAMMARSTEN, O.
"Zur Chemie der Galle"
Ergebn.d.Physiol. 4 : 1. 1905

33. HARMON, P.H. et al.
"The effect upon animals of inoculation with the virus of poliomyelitis"
J.prevent.Med. 4 : 89. 1930
zit. CREUTZFELT (Zschr.f.Hyg.105:342.1926)
u. RÖMER (Mü.Med.Wschr.56:2505.1909)

34. HECKE, F.
"Untersuchungen über den Infektionsweg des Virus der ansteckenden Schweinelähmung (Teschener Krankheit) nach oraler Aufnahme" 1958
a.d.Bds.Forsch.Anst.f.Viruskrankh.d.Tiere 3 : 198

35. HECKE, F.
"Das Verhalten hoher Kulturpassagen des Teschener-Virus im Tierkörper nach oraler Verabreichung"
Zbl.Bakt., Abt.I, Orig., 192: 158. 196?

36. HENNEBERG, G.
"Poliomyelitis-Schutzimpfung mit Lebendimpfstoff (Cox) in Berlin im Mai 1960"
Bundesgesundheitsblatt Nr. 10 : 153. 1962

37. HENNEBERG, G. et al.
"Immunogenic activity of aqueous and aluminium oxide adsorbed poliovirus vaccine in Macaca Mulatta"
Amer.J.Hyg. 75, 1 : 44. 1962

38. HENNEBERG, G. et al.
"Kontaktinfektionen nach Schutzimpfung mit Lebendimpfstoffen"
Münch.Med.Wschr. 105, Nr.5 : 225. 1963

39. HENNEBERG, G.
Persönliche Mitteilung

40. HERBST, G.
"Das Lymphgefaäßsystem und seine Verrichtungen"
Göttingen 1844

41. HIRSCH, R.
"Über das Vorkommen von Stärkekörnern im Blut und im Urin"
Z.exp.Path.u.Ther. 3 : 390. 1906

42. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER
Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse
10.Aufl., Bd.V. 1953

43. JUNGEBLUT, C.W.
"Monkey pathogenicity of various strains of murine poliomyelitis virus"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 72 : 532. 1949

44. KALM, H.
"Zur histologischen Diagnose Poliomyelitis im Tierexperiment"
Arch.ges.Virusforsch. 6 : 183. 1956

45. KARRER
Lehrbuch der organischen Chemie, S. 744 (1959)

46. KINDT, H.
"Experimentelle Beiträge zur Frage der 'Chemoresistenz' pathogener Mikroorganismen" 1960
Inaugural-Dissertation Kiel

47. KLING, W.
"Physik und Chemie des Waschens"
Angew.Chemie, 62.Jg., 13/14 : 305. 1950

48. KOPROWSKI, H.
"Immunization of man against poliomyelitis with attenuated preparations of living virus"
Ann.N.Y.Acad.Sc. 61 : 1039. 1955

49. KRAUS, R.
"Besitzt die Galle Lyssavirus schädigende Eigenschaften?"
Z.Hyg.Infekt.-Kr. 34 : 31. 1900

50. KRAUSE, P. und MEINICKE, E.
"Zur Aetiologie der akuten, epidemischen Kinderlähmung"
Dtsch.Med.Wschr. 35 : 1825. 1901

51. LANDSTEINER, K. et al.
"Etude expérimentale de la poliomyélite aigue"
Ann.Inst.Pasteur 25 : 805. 1911

52. LANDSTEINER, K. und POPPER, E.
"Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen"
Z.Immunitätsforsch., Orig. 2 : 377. 1909

53. LAVER, W.G.
"The structure of influenza viruses"
Virology 20 : 251. 1963

54. LESIEUR, C.
"Neutralisation du virus rabique par la bile ou les sels biliaires"
Compt.Rend.Soc.Biol. II : 694. 1906

55. LITTLEFIELD, J.W. et al.
"Studies on cytoplasmic ribonucleoprotein particles from the liver of the rat"
J.Biol.Chem. 217 : 111. 1955

56. MARFELS, F. und MOLESCHOTT, J.
"Der Übergang kleiner fester Theilchen aus dem Darmkanal in den Milchsaft und das Blut"
Wiener Med.Wschr. 4 : 817. 1854

57. NEUFELD, F.
"Über eine spezifische bakteriolytische Wirkung der Galle"
Z.Hyg.Infekt.-Kr. 34 : 454. 1900

58. NEUSTAEDTER, M.
"Poliomyelitis in Guinea-pigs"
J.Am.Med.Ass. 50 : 982. 1913

59. PAUL, J.R.
"Epidemiology of poliomyelitis"
Monographie Nr.26 WHO 1955

60. PICARD, H.
"Zur epidemischen Natur der Poliomyelitis anterior: Experimentelle und spontane Übertragung auf Affen und Meerschweinchen"
Z.Hyg.Infekt-Kr. 105 : 307. 1926

61. RAETTIG, H.
"Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus"
Zbl.Bakt. I.Abt. Orig. 191 : 97. 1963

62. RAETTIG, H.
"Tierexperimente zur Resorptionsviraemie"
Zbl.Bakt. I.Abt. Orig. 192 : 534. 1964

63. RAETTIG, H.
"Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung"
Wiener Med.Wschr. 115, Nr.3 : 33. 1965

64. REED, L.J. and MUENCH, H.
"A simple method of estimating fifty per cent endpoints"
Am.J.Hyg. 27 : 493. 1938

65. REPLOH, H. OTTE, H.J.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten
Fischer-Verlag, Stuttg., 2.Aufl. (1965)

66. RICHTER, A. and WECKER, E.
"The reaction of EEE virus preparations with sodium deoxycholate"
Virology 20 : 263. 1963

67. SABIN, A.B.
"Immunization of chimpanzees and human beings with avirulent strains of poliomyelitis virus"
Ann.N.Y.Acad.Sc. 61 : 1050. 1955

68. SABIN, A.B.
"Present status of attenuated live-virus poliomyelitis vaccine"
J.Am.Med.Ass. 162, Nr.18 : 1589. 1956

69. SABIN, A.B.
"Prevention of poliomyelitis by vaccination"
Advances Pediat. 10 : 197. 1958

70. SCHNDEY, G.L.
"Gallen und Gallensäuren. Papierchromatische Untersuchungen"
Experientia 15 : 278. 1959

71. SEDAN, J. et HERMANN, R.
"Parallele de l'infection éberthienne expérimentale, chez le cobaye sensibilisé par l'ingestion de bile et le cobaye ayant jeuné plusieurs jours"
Compt. Rend. Soc. Biol. 90 : 567. 1924

72. SHWARTZMANN, G.
"Enhancing effect of cortisone upon poliomyelitis infection (strain MEF_1) in hamsters and mice"
Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 75 : 835. 1950

73. SMITH, W.
" The action of bile salts on viruses"
J.Path.Bact. 48 : 557. 1939

74. SPRÖSSIG, M.
" Kritische Betrachtungen zur Auswertung quantitativer Ergebnisse im exembryonierten Brutei"
Zbl.Bakt. Abt.I Orig. 180 : 449. 1960

75. STRONG, L.C. et HICKS, R.A.
"De la vaccination contre le bacillus typhi murium par le procédé de Besredka"
Compt.Rend.Soc.Biol. 103 : 123. 1930

76. SUNAGA, H., TAYLOR, R.M. and HENDERSON, J.R.
"Comparative sensitivity of viruses to treatment with diethyl ether and sodium deoxycholate"
Amer.J.Trop.Med.Hyg. 9 : 419. 1960

77. THEILER, M.
"Action of deoxycholate on Arbor viruses"
Proc.Soc.Exp.Biol.N.Y. 96 : 380. 1957

78. VALLEE, M.H.
"Recherches sur les propriétés neutralisantes de la bile a l'egard du virus rabique"
Ann.Inst.Pasteur S. 506. 1899

79. VERZAR, F.
"Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern"
Biochem.Z. 34 : 86. 1911

80. VOLKHEIMER, G.
"Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für groß-
korpuskuläre Elemente"
Habilitationsschrift (1962) I.Med.Klinik d.Charité
Berlin
Z.Gastroenterol. 2 : 57. 1964

81. WASSILIEFF-KLEIMANN, M.
"Über Resorption körniger Substanzen von Seiten
der Darmfollikel"
Arch.exp.Path.u.Pharm. 27 : 191. 1890

82. WILDY, P. and HORNE, R.W.
"Structure of animal viral virus particles"
Progr.Med.Virol. 5 : 1. 1963

83. ZAPPERT et al.
"Studien über die Heine-Medin'sche Krankheit
(Poliomyelitis acuta)"
Leipzig u. Wien 1911

Herrn Prof.Dr.med. Georg Henneberg danke ich sehr für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 22. August 1936 wurde ich, Dieter Karl Robert Kraft, als Sohn des Arztes Dr.med. Karl Kraft und seiner Ehefrau Hildegard, geborene Hux, in Bad Wildungen geboren. Dort besuchte ich vier Jahre die Volksschule und darauf das Realgymnasium für Jungen. Am 6. März 1956 bestand ich daselbst die Reifeprüfung. Vom Sommersemester 1956 bis Wintersemester 1956/57 war ich an der philosophischen Fakultät der Philipps-Universität Marburg immatrikuliert und absolvierte im Anschluß daran ein Praktikum im Bauhandwerk. Im Wintersemester 1957/58 begann ich an der Technischen Hochschule München das Studium der Architektur. Mit dem Sommersemester 1958 nahm ich an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/Main das Medizinstudium auf, das ich in den folgenden Semestern in Marburg fortsetzte. Dort bestand ich die medizinische Vorprüfung mit "gut". An der Freien Universität Berlin hörte ich die klinischen Semester und legte hier das medizinische Staatsexamen am 27. März 1965 mit "sehr gut" ab. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent am Rudolf-Virchow-Krankenhaus Berlin tätig.